

52.3  
60.4

ВЫСШЕЕ  
ОБРАЗОВАНИЕ

---

БИОХИМИЧЕСКАЯ  
ФАРМАКОЛОГИЯ



БИ

ФА

---

МО



ЧИТАЛЬНЫЙ  
ЗАЛ

# БИОХИМИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Под ред. проф. П. В. СЕРГЕЕВА

Допущено  
Министерством высшего и среднего  
специального образования СССР  
в качестве учебного пособия  
для медико-биологических  
специальностей вузов



МОСКВА «ВЫСШАЯ ШКОЛА» 1982



52.8

~~ББК 28.072~~

Б63

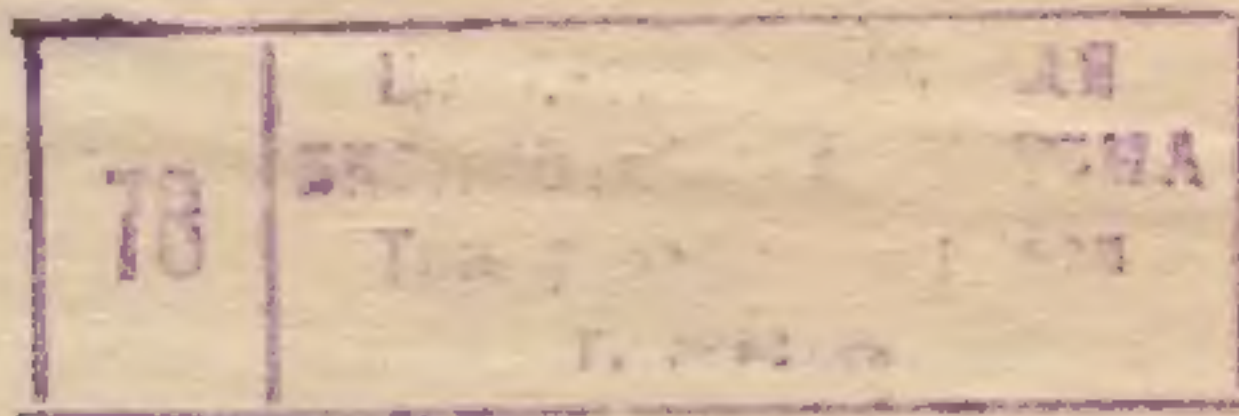
~~УДК 577.1~~

П. В. Сергеев, Л. А. Николаев, Э. М. Халилов, Н. Л. Шимановский,  
Р. Д. Сейфулла, Н. В. Хромов-Борисов, И. В. Комиссаров, И. Н. Пи-  
девич, О. А. Гомазков, С. Н. Португалов, В. В. Лакин, В. З. Горкин,  
К. С. Раевский, А. И. Матюшин, В. С. Осняч, И. Е. Ковалев

Рецензенты:

кафедра фармакологии Московского стоматологического ин-та (зав.  
кафедрой проф. К. М. Лакин), проф. Ю. Ф. Крылов, чл.-кор. АН  
СССР Д. А. Харкевич (1-й Московский медицинский ин-т) и проф.  
О. М. Полторак (МГУ)

25544-2



**Биохимическая фармакология: Учеб. пособие для ву-**  
**Б63** зов/Колл. авторов под ред. П. В. Сергеева. — М.: Высш.  
школа, 1982.— 343 с., ил.

В пер.: 1 р. 20 к.

В книге освещены основные достижения исследования молекулярных ме-  
ханизмов действия физиологически активных веществ. Специально рассмот-  
рены физико-химические основы фармакокинетики и фармакодинамики. Боль-  
шое внимание уделено зависимости характера биологической активности раз-  
личных групп лекарственных веществ от их химического строения. Значи-  
тельная часть в книге отведена вопросам метаболизма, биотранспорта и ре-  
цепции фармакологических веществ.

Предназначается для студентов факультетов медико-биологического про-  
филя, а также ученых, работающих в области биохимической фармакологии.

Б 4108000000—631 45—82  
001(01)—82

ББК 28.072  
57.04

©Издательство «Высшая школа», 1982

Цель написания этой  
молекулярных механиз-  
ных веществ, что должно  
современной отечественно  
Прогресс в молекуляр  
ко химическую природу  
мах, но и найти способы  
динений. Именно биохим  
ческие предпосылки нап  
веществ с определенными  
дения о химическом строе  
ческих веществ безусловно  
медицины, поскольку раз  
карственных веществ нево  
биологической активности  
Книга ориентирована г  
номами биохимии и биофи  
ла в большинстве глав пре  
ных механизмов действия  
веществ, дается в краткой  
ских системах, которые под  
того, книга начинается с д  
ко-химических основ фарм  
базу всех современных исс  
логической реакции.  
В написании книги при  
ные специалисты, работаю  
фармакологии.  
Введение написано Сер  
вым Л. А.; ч. II, гл. 1 —  
ским Н. Л.; ч. III, гл. 1 —  
рисовым Н. В.; гл. 3 — Ком  
Шимановским Н. Л.; гл.  
вым О. А.; гл. 7 — Дунаев  
гл. 9 — Лакиным В. В.;  
ским К. С.; ч. VI — Сергее  
вом В. С.; ч. VII — Ковале  
Выражаем глубокую бла  
кешину Д. А., профессорам К  
большой труд по рецензиро  
Авторы будут признат  
мечания.



# ОГЛАВЛЕНИЕ

|  |   |
|--|---|
| Предисловие . . . . .  | 3 |
| Введение . . . . .   | 4 |
| § 1. Биохимическая фармакология: итоги и перспективы . . . . .     | 4 |
| § 2. Методологические вопросы биохимической фармакологии . . . . . | 8 |

## ЧАСТЬ I

### ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФАРМАКОЛОГИИ

|   |    |
|---|----|
| Глава 1. Общие термодинамические закономерности. Равновесные системы . . . . .    | 15 |
| § 1. Равновесие . . . . .   | 15 |
| § 2. Законы термодинамики . . . . .   | 16 |
| § 3. Термодинамические критерии выбора возможного направления реакции . . . . .   | 17 |
| § 4. Равновесие Доннана . . . . .   | 20 |
| § 5. Термодинамика необратимых процессов . . . . .                                | 21 |
| Глава 2. Химическая кинетика . . . . .  | 22 |
| § 1. Скорость реакции . . . . .   | 22 |
| § 2. Закон действия масс. Молекулярность реакции . . . . .                        | 23 |
| § 3. Последовательные реакции . . . . .   | 25 |
| § 4. Диффузия . . . . .   | 26 |
| § 5. Химическая обратимость . . . . .   | 27 |
| § 6. Энергия активации . . . . .  | 29 |
| § 7. Сопряженные реакции . . . . .  | 31 |
| § 8. Особенности кинетики реакций в гетерогенных системах . . . . .               | 32 |
| § 9. Теория переходного состояния . . . . .                                       | 34 |
| § 10. Катализ . . . . .   | 35 |
| Глава 3. Свободнорадикальные процессы . . . . .                                   | 39 |
| § 1. Свободные радикалы и цепные реакции . . . . .                                | 39 |
| § 2. Свойства свободных радикалов . . . . .                                       | 42 |
| Глава 4. Состояние вещества в растворе . . . . .                                  | 44 |
| § 1. Буферные системы . . . . .   | 45 |
| § 2. Структура воды . . . . .   | 46 |
| § 3. Изменение структуры воды под влиянием ионов . . . . .                        | 47 |
| Глава 5. Строение и свойства молекул . . . . .                                    | 49 |
| § 1. Химическая связь . . . . .   | 49 |
| § 2. Основы методов валентных связей (ВС) и молекулярных орбиталей (МО) . . . . . | 49 |
| § 3. Гибридизация . . . . .   | 50 |
| § 4. Особенности молекул, содержащих $\sigma$ -связи . . . . .                    | 51 |
| § 5. Сопряженные $\pi$ -электронные системы . . . . .                             | 51 |
| § 6. Структурные индексы . . . . .  | 52 |
| § 7. Порядок связи . . . . .  | 53 |
| § 8. Индекс свободной валентности . . . . .                                       | 53 |



|   |    |
|---|----|
| Глава 6. Слабые силы химической связи. Межмолекулярные взаимодействия . . . . .   | 55 |
| § 1. Потенциальная энергия взаимодействия молекул . . . . .                       | 55 |
| § 2. Силы Ван-дер-Ваальса . . . . .   | 56 |
| § 3. Комплексы с переносом заряда. Донорно-акцепторные свойства молекул . . . . . | 58 |
| § 4. Водородная связь . . . . .   | 59 |
| Глава 7. Окислительно-восстановительные реакции . . . . .                         | 62 |
| § 1. Электрохимический потенциал . . . . .  | 62 |
| § 2. Цепи переноса электронов в биологических системах . . . . .                  | 63 |
| Литература . . . . .  | 64 |

## ЧАСТЬ II

### МЕТАБОЛИЗМ И БИОТРАНСПОРТ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

|  |    |
|--|----|
| Глава 1. Биохимическая трансформация лекарственных веществ в организме . . . . .   | 65 |
| § 1. Роль эндоплазматического ретикулума печени в биотрансформации лекарственных веществ . . . . .   | 66 |
| § 2. Основные типы реакций превращения лекарственных веществ в эндоплазматическом ретикулуме печени . . . . .                                  | 69 |
| § 3. Роль лекарственных веществ в изменении ферментативной активности метаболизирующей системы эндоплазматического ретикулума печени . . . . . | 76 |
| Глава 2. Транспортные системы лекарственных веществ и химические принципы их функционирования . . . . .  | 78 |
| § 1. Физико-химические аспекты комплексообразования низкомолекулярных веществ с биомакромолекулами . . . . .                                   | 79 |
| § 2. Специфические транспортные системы крови . . . . .  | 80 |
| § 3. Сывороточный альбумин — основной представитель неспецифических транспортных систем крови . . . . .  | 82 |
| § 4. Физиологическое значение связывания низкомолекулярных веществ с транспортными белками . . . . .   | 87 |
| Литература . . . . .   | 92 |

## ЧАСТЬ III

### БИОХИМИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ С РЕЦЕПТОРАМИ

|  |     |
|--|-----|
| Глава 1. Фармакологическая рецепция как теоретическая основа конструирования новых лекарственных средств . . . . . | 94  |
| § 1. Кинетика комплексообразования фармакологического препарата с рецептором . . . . .                             | 94  |
| § 2. Принципы внутриклеточной компартментализации и рецепция . . . . .   | 96  |
| § 3. Понятие о структурной комплементарности лекарственного вещества и рецептора . . . . .                         | 98  |
| § 4. Роль дисульфидной связи во взаимодействии лекарственного вещества с рецептором . . . . .                      | 102 |
| § 5. Некоторые методические подходы к исследованию рецепторов . . . . .  | 104 |
| § 6. Структура воды и рецепция фармакологических препаратов . . . . .  | 105 |
| § 7. Физико-химические аспекты лекарственной рецепции . . . . .  | 108 |
| § 8. Теория фармакологической рецепции . . . . .   | 110 |
| § 9. Гипотеза о роли рецепторов в передаче информации в клетку . . . . .   | 112 |
| § 10. Проблемы фармакологической инженерии . . . . .   | 112 |
| Глава 2. Ацетилхолин. Холинорецепторы. Холинергические вещества . . . . .  | 112 |
| § 1. Выделение холинорецептора, состав и размеры молекулы . . . . .  | 115 |



|   |            |
|---|------------|
| § 2. Конформации холинорецепторов и медиаторных молекул . . . . .   | 118        |
| § 3. Взаимодействие дикатионов с холинорецепторами скелетных мышц . . . . .   | 120        |
| § 4. Зависимость типа действия дикатионов от их гибкости . . . . .  | 122        |
| <b>Глава 3. Катехоламины. Адренорецепторы. Адренергические вещества . . . . .</b>   | <b>123</b> |
| § 1. Адренергические рецепторы и адренорецепция . . . . .   | 125        |
| § 2. Фармакология адренергических синапсов . . . . .  | 131        |
| <b>Глава 4. Гистамин и антигистаминные средства . . . . .</b>   | <b>146</b> |
| § 1. Физико-химические свойства гистамина . . . . .   | 146        |
| § 2. Биосинтез гистамина . . . . .  | 147        |
| § 3. Депонирование и высвобождение гистамина . . . . .  | 148        |
| § 4. Пути инактивации гистамина в организме . . . . .   | 153        |
| § 5. Гистаминовые рецепторы . . . . .   | 157        |
| § 6. Основные аспекты фармакологического действия гистамина . . . . .   | 160        |
| § 7. Антигистаминные средства . . . . .   | 165        |
| <b>Глава 5. Серотонин. Серотонинореактивные структуры. Агонисты и антагонисты серотонина . . . . .</b>  | <b>169</b> |
| § 1. Некоторые химические свойства серотонина . . . . .   | 170        |
| § 2. Содержание и обмен серотонина у млекопитающих . . . . .  | 171        |
| § 3. Влияние серотонина на организм млекопитающих . . . . .   | 173        |
| § 4. Значение серотонина в физиологических и патологических реакциях . . . . .  | 176        |
| § 5. Общее понятие о серотонинореактивных структурах, их возможном строении и методе фармакологической характеристики . . . . .                               | 178        |
| § 6. Фармакологическая характеристика серотонинореактивных структур гладких мышц. Агонисты и антагонисты серотонина Д-типа . . . . .                          | 180        |
| § 7. Фармакологическая характеристика серотонинореактивных структур вегетативных ганглиев. Агонисты и антагонисты серотонина М-типа . . . . .                 | 186        |
| § 8. Фармакологическая характеристика серотонинореактивных структур сердечно-легочной рефлексогенной зоны. Агонисты и антагонисты серотонина Т-типа . . . . . | 188        |
| § 9. Влияние антагонистов Д-, М- и Т-типа на центральные эффекты серотонина . . . . .   | 190        |
| § 10. Применение антагонистов серотонина с терапевтической целью . . . . .  | 191        |
| <b>Глава 6. Кинины . . . . .</b>  | <b>192</b> |
| § 1. Биохимия калликреин-кининовой системы . . . . .  | 192        |
| § 2. Физиологическая роль калликреин-кининовой системы . . . . .  | 195        |
| § 3. Кинины и патофизиологические реакции организма . . . . .   | 198        |
| § 4. Молекулярные механизмы действия кининов . . . . .  | 199        |
| § 5. Вещества, регулирующие фармакологическую активность брадикинина . . . . .  | 201        |
| <b>Глава 7. Простагландины . . . . .</b>  | <b>207</b> |
| § 1. Структура и классификация . . . . .  | 208        |
| § 2. Распределение, биосинтез и метаболизм . . . . .  | 210        |
| § 3. Физиологические эффекты . . . . .  | 214        |
| § 4. Молекулярные механизмы действия . . . . .  | 217        |
| <b>Глава 8. Стероидные гормоны . . . . .</b>  | <b>218</b> |
| § 1. Классификация и химическая структура . . . . .   | 219        |
| § 2. Физиологические эффекты . . . . .  | 219        |
| § 3. Механизмы действия стероидов на клеточном уровне . . . . .   | 222        |
| <b>Глава 9. Белково-пептидные гормоны . . . . .</b>   | <b>228</b> |
| § 1. Классификация и химическая структура . . . . .   | 229        |
| § 2. Рецепторы белково-пептидных гормонов . . . . .   | 229        |
| § 3. Роль аденилатциклазной системы в реализации биологической активности белково-пептидных гормонов . . . . .  | 231        |



|   |     |
|---|-----|
| § 4. Влияние белково-пептидных гормонов на активность АТФ-аз и 5'-нуклеотидазы плазматических мембран . . . . . | 239 |
| § 5. Связь химической структуры белково-пептидных гормонов с их биологическим действием . . . . .               | 242 |
| Глава 10. Наркотические анальгетики . . . . .   | 244 |
| § 1. Химическая структура . . . . .   | 244 |
| § 2. Механизм действия . . . . .  | 245 |
| § 3. Идентификация морфинорецепторов . . . . .  | 247 |
| § 4. Локализация морфинорецепторов . . . . .  | 249 |
| § 5. Взаимодействие наркотических анальгетиков с морфинорецепторами . . . . .                                   | 251 |
| § 6. Эндогенные опиатоподобные пептиды . . . . .  | 254 |
| Литература . . . . .  | 256 |

#### ЧАСТЬ IV

### НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ

|  |     |
|--|-----|
| Глава 1. Холинергические механизмы действия психотропных веществ . . . . .           | 263 |
| § 1. Биохимия холинергической системы ЦНС . . . . .                                  | 263 |
| § 2. Влияние психотропных средств на холинергические механизмы ЦНС . . . . .         | 264 |
| Глава 2. Адренергические механизмы действия психотропных веществ . . . . .           | 266 |
| § 1. Дофаминергическая гипотеза механизма действия нейрорептиков . . . . .           | 266 |
| § 2. Влияние психотропных средств на тирозингидроксилазу мозга . . . . .             | 270 |
| § 3. Влияние психотропных веществ на резервирование катехоламинов (КА) . . . . .     | 272 |
| § 4. Захват моноаминов как возможная точка приложения психотропных веществ . . . . . | 274 |
| Глава 3. Серотонинергические механизмы действия психотропных веществ . . . . .       | 276 |
| § 1. Биохимия серотонинергической системы ЦНС . . . . .                              | 276 |
| § 2. Влияние психотропных веществ на серотонинергическую систему . . . . .           | 277 |
| Глава 4. Гамкергические механизмы в действии психотропных средств . . . . .          | 279 |
| § 1. Биохимия гамкергической системы ЦНС . . . . .                                   | 279 |
| § 2. Аналоги и производные ГАМК как потенциальные нейротропные средства . . . . .    | 281 |
| Литература . . . . .   | 284 |

#### ЧАСТЬ V

### НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ВЕЩЕСТВА

|   |     |
|---|-----|
| Глава 1. Дезоксирибонуклеиновая кислота и лекарственные вещества . . . . .          | 287 |
| § 1. Строение ДНК и методы ее исследования . . . . .                                | 287 |
| § 2. Механизм действия некоторых генотропных веществ . . . . .                      | 290 |
| § 3. Процесс репликации в клетке и ферменты, участвующие в его реализации . . . . . | 293 |
| § 4. Лекарственные вещества, влияющие на процесс репликации в клетке . . . . .      | 295 |
| Глава 2. Рибонуклеиновые кислоты и лекарственные вещества . . . . .                 | 298 |
| § 1. Строение РНК. Процесс транскрипции в клетке . . . . .                          | 298 |
| § 2. Лекарственные вещества, влияющие на процесс транскрипции в клетке . . . . .    | 299 |
| Литература . . . . .  | 302 |



## ЧАСТЬ VI

### РОЛЬ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ЭФФЕКТАХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

|   |     |
|---|-----|
| Глава 1. Иммуитет как функция системы, инактивирующей чужеродные химические соединения (ксенобиотики). Сравнительные аспекты некоторых детоксицирующих систем организма . . . . . | 305 |
| § 1. Иммунологическая защита организма от чужеродных веществ . . . . .  | 305 |
| § 2. Связь системы иммунитета с другими детоксицирующими системами организма . . . . .  | 309 |
| § 3. Генетический контроль защитных реакций организма . . . . .   | 315 |
| Глава 2. Иммунные реакции и действие на них фармакологических веществ . . . . .   | 316 |
| § 1. Клеточные и молекулярные механизмы иммунных ответов . . . . .  | 316 |
| § 2. Влияние фармакологических веществ на систему иммунитета . . . . .  | 319 |
| § 3. Некоторые представления о механизме действия противоаллергических средств . . . . .  | 325 |
| § 4. Антитела к биологически активным молекулам и их использование в фармакологии . . . . .   | 327 |
| Литература . . . . .  | 329 |



## ПРЕДИСЛОВИЕ

Цель написания этой книги — обобщить имеющиеся сведения о молекулярных механизмах действия различных групп лекарственных веществ, что должно восполнить пробел по этому вопросу в современной отечественной фармакологической литературе.

Прогресс в молекулярной биологии позволил выяснить не только химическую природу многих процессов в биологических системах, но и найти способы их регуляции с помощью различных соединений. Именно биохимическая фармакология создает теоретические предпосылки направленного синтеза фармакологических веществ с определенными заданными свойствами. Кроме того, сведения о химическом строении и механизме действия фармакологических веществ безусловно представляют интерес для практической медицины, поскольку разумное использование тех или иных лекарственных веществ невозможно без знания всех особенностей их биологической активности.

Книга ориентирована главным образом на лиц, знакомых с основами биохимии и биофизики. Для облегчения усвоения материала в большинстве глав прежде, чем перейти к анализу молекулярных механизмов действия той или иной группы лекарственных веществ, дается в краткой форме представление о тех биохимических системах, которые подвержены влиянию этих лекарств. Кроме того, книга начинается с довольно подробного рассмотрения физико-химических основ фармакологии, которые представляют собой базу всех современных исследований химизма первичной фармакологической реакции.

В написании книги принимали участие высококвалифицированные специалисты, работающие в узких областях биохимической фармакологии.

Введение написано Сергеевым П. В.; ч. I, гл. 1—7 — Николаевым Л. А.; ч. II, гл. 1 — Халиловым Э. М.; гл. 2 — Шимановским Н. Л.; ч. III, гл. 1 — Сейфуллой Р. Д.; гл. 2 — Хромовым-Борисовым Н. В.; гл. 3 — Комиссаровым И. В.; гл. 4 — Сергеевым П. В., Шимановским Н. Л.; гл. 5 — Пидевич И. Н.; гл. 6 — Гомазковым О. А.; гл. 7 — Дунаевым В. Г.; гл. 8 — Португаловым С. Н.; гл. 9 — Лакиным В. В.; гл. 10 — Горкиным В. З.; ч. IV — Раевским К. С.; ч. V — Сергеевым П. В., Матюшиным А. И., Оснячом В. С.; ч. VI — Ковалевым И. Е.

Выражаем глубокую благодарность член-кор. АМН СССР Харкевичу Д. А., профессорам Крылову Ю. Ф. и Полтораку О. М. за большой труд по рецензированию книги.

Авторы будут признательны читателям за все критические замечания.

Авторы



## § 1. Биохимическая фармакология: истоки и перспективы

Фармакологическая наука делится на три раздела: теоретическую, экспериментальную и клиническую фармакологию. При известной самостоятельности эти части тесно связаны друг с другом. История фармакологической науки отличается логичными неожиданностями. Синтезируются отдельные вещества, затем группы соединений, создаются целые направления лекарственной терапии и профилактики, такие, например, как радиационная фармакология, иммунофармакология, психофармакология и др. В то же время, если проследить за появлением того или другого фармакологически активного вещества, то оказывается, что синтез химического соединения — результат последовательной работы больших коллективов ученых. Роль случая при этом нивелируется.

Теоретическое обоснование разработки методов получения лекарственных веществ, экспериментальное подтверждение правильности выбранного направления исследований — залог успешного применения этих веществ в клинике.

Экспериментальная фармакология — связующее звено между теоретической и клинической фармакологией. В нем можно выделить две части: биохимическую (квантовую, молекулярную) и физиологическую фармакологию.

Если фармакологи-биохимики изучают природу реакций между лекарственными веществами и биомолекулами, то фармакологи-физиологи анализируют изменения функций органов и систем, вызываемые фармакологическим воздействием. Идеальным представляется сочетание в одном исследовании тех и других методических принципов. Выяснение химизма первичной фармакологической реакции по-прежнему остается главной задачей биохимической фармакологии.

При исследовании действия лекарств на молекулярном уровне возникли новые представления о первичной фармакологической реакции. Еще Павлов И. П. указывал на важность этой проблемы, отмечая необходимость изучения действия фармакологических веществ на периферические окончания центростремительных нервов.

Как известно, в основе учения Павлова были заложены идеи нервизма. «Все внутренние, как и внешние отношения в высших организмах главнейшим образом осуществляются при посредстве нервной системы», — писал Павлов.



Изучая работу центростремительных нервов, Павлов особо выделил рецепторную роль их окончаний. «Этими окончаниями пронизаны все органы и все их ткани. Эти окончания необходимо представлять как крайне разнообразные, специфические, подобно окончаниям нервов органов чувств, приспособленные каждое к своему своеобразному раздражителю механического, физического или химического характера, образования... Отсюда понятно, что весьма многие вещества, введенные в организм, нарушают его равновесие, вследствие тех или других отношений к периферическим окончаниям, как по преимуществу чувствительным, легко реагирующим частям животного тела» (Павлов, 1923).

Развивая идеи нервизма Павлова, наши ведущие фармакологи смогли доказать возможность лекарственной регуляции физиологических и биохимических процессов на разных уровнях рефлекторной дуги, начиная с центра и кончая периферией.

Аничков С. В. (1945) впервые сформулировал положение, что фармакологические рецепторы должны рассматриваться как сложные биохимические системы, избирательно взаимодействующие с веществами, несущими строго определенную информацию.

В работах Закусова В. В. (1937—1980) в течение многих лет разрабатывалась синаптическая теория действия нейротропных веществ, постулаты которой постоянно подтверждаются морфологами, биохимиками, физиологами.

Машковский М. Д. (1950—1980) на основе направленного синтеза лекарственных веществ доказал, что можно добиться избирательности в регуляции процессов возбуждения и торможения в центральной нервной системе путем модификации молекул лекарственных веществ.

Идеи нервизма Павлова развивались также в работах Мозгова И. Е., Васильевой В. В., Вальдмана А. В., Харкевича Д. А., Заводской И. С., Комендантовой М. В., Денисенко П. П. и др.

Классик отечественной фармакологии Кравков Н. П., положивший начало многим разделам современной фармакологии, особое значение придавал изучению зависимости действия фармакологических препаратов от их химической структуры.

Кравковым впервые была поставлена проблема чувствительности (или нечувствительности) организма к лекарственным веществам.

С проблемой чувствительности к лекарственным веществам тесно связана концепция рецептора, которая впервые была предложена Паулем Эрлихом для объяснения возможных механизмов действия лекарственных средств. Основной постулат этой концепции заключается в том, что лекарства не могут действовать, пока не свяжутся с рецепторами.

Эрлих использовал понятие «рецептор» для обозначения воспринимающего аппарата, под которым он понимал определенные молекулярные группы (боковые цепи) живой клеточной протоплазмы, посредничающие при поглощении не только питательных веществ, но и циркулирующих в крови микробов или их токсинов.



Образованные в избытке и выделенные в кровь боковые цепи (свободные рецепторы) клеточной протоплазмы образуют так называемые антитоксины (антитела). Кроме того, к рецепторам относят «крайние образования» чувствительных (афферентных) клеток, воспринимающие раздражения из внешней (и внутренней) среды и превращающие физическую (механическую, тепловую и т. д.) или химическую энергию раздражения в возбуждение, передаваемое по чувствительным нервам в центральную нервную систему; они являются периферическими частями анализаторов; в зависимости от адекватности по отношению к тем или иным раздражениям рецепторы подразделяются на хеморецепторы, механорецепторы, фоторецепторы и терморецепторы, а по отношению к среде, из которой воспринимаются раздражения — на экстероцепторы, интероцепторы.

Эрлих предполагал, что низкомолекулярные лиганды имеют два структурных детерминанта, один из которых (гаптоформная область) соединяется с рецептором, а другой (токсоформная) инициирует биологический эффект. По современным представлениям, основанным на теории индуцированного соответствия и динамической структуры белков и мембран, эргоформный детерминант рассматривается не как лиганд, а как часть молекулы рецептора.

Итак, по Эрлиху, рецептор есть биомакромолекула, связываясь с которой, лекарственный препарат вызывает биологический эффект.

Вследствие того что лекарства могут также связываться с различными биоструктурами, которые не обуславливают реализацию характерной для них физиологической активности, некоторые современные авторы все рецепторы делят на специфические и неспецифические. Рецепторы, обеспечивающие основное действие лекарства, называют специфическими, а рецепторы, не опосредующие это действие, — неспецифическими, или «молчащими».

В то же время нет устоявшегося мнения, что считать рецептором — активную ли группировку макромолекулы (по аналогии с активным центром фермента), к которой присоединяется низкомолекулярный лиганд, или всю макромолекулу. Поэтому в ряде случаев целесообразно пользоваться понятием «узнающие системы».

«Узнающими системами», или «системами предпочтения», называются сложные биологические структуры, которые отличаются не только высоким сродством к тем или иным лигандам, но и состоят из нескольких частей, каждая из которых, видимо, отвечает за ориентацию, притяжение и связывание лиганда, а также за последующую трансформацию биологического сигнала, который «несет» лиганд.

Огромное воздействие на развитие всей медико-биологической науки, в том числе и фармакологии, оказало учение Мечникова И. И. Первое сообщение о фагоцитозе как биологическом явлении Мечников сделал в 1883 г. в Одессе на съезде врачей и естествоиспытателей. Разносторонняя образованность позволила ему разработать учение о воспалении и предложить теорию иммунитета. Мечников, как никто до него, поставил кардинально проблему чувствительно-



сти и проблему нечувствительности. Именно Мечникову пришлось выдержать острую многолетнюю полемику о правомочности такой постановки проблемы.

«Чувствительность, — писал Мечников, — роль которой так велика в явлениях иммунитета, есть общее свойство живых существ, управляемое общим законом».

Второе положение, которое было сформулировано Мечниковым, относится к генетической обусловленности невосприимчивости и возможности ее регуляции.

Мечников постоянно подчеркивал, что нельзя противопоставлять клеточный и гуморальный иммунитет друг другу, что это есть явление одного и того же процесса. С позиций иммунофармакологии такое положение должно быть учитываемо постоянно. Если изучать влияние иммуносупрессоров или иммуностимуляторов только на клеточный или только на гуморальный иммунитет, то полученные сведения будет трудно интерпретировать во всей их биологической глубине.

«Часто думают, — отмечал Мечников, — что вкратце изложенная мной теория основным образом противоречит теории боковых цепей, или приемников, «рецепторов» Эрлиха. Я не могу с этим согласиться».

Интересная мысль была высказана Мечниковым о модуляции взаимоотношений между микробом и клеткой с помощью каких-либо эндогенных веществ, т. е. если говорить языком сегодняшнего дня, наличии возможных модуляторов функции рецепторов.

Несомненное значение для дальнейшего развития фармакологии имеет учение Штерн Л. С. о гисто-гематических барьерах (ГГБ). Согласно Штерн, ГГБ — пластичные, подвижные аппараты, которые принимают участие в поддержании постоянства внутренней среды и функции которых можно регулировать с помощью экзогенных и эндогенных физиологически активных веществ.

Первоначально Штерн проводила исследования в области гемато-энцефалического барьера (ГЭБ; с 1917 г.); она доказала избирательность его проницаемости для разных веществ в зависимости от их физико-химических свойств. Затем Штерн перешла к поискам ГГБ в других органах. Перспективность учения Штерн позволила медико-биологам, в том числе фармакологам, изучить состояние проницаемости ГГБ разных органов при воздействии лекарственных средств. Определение фармакологических показателей, которые столь глубоко и широко исследуются, имеет прямое отношение к методологическим аспектам учения о гисто-гематических барьерах.

До 50-х годов вопросы лекарственной рецепции рассматривались в основном с позиции морфологии и физиологии. Было в определенной степени предано забвению положение Эрлиха о том, что если вещество не фиксируется на рецепторе, то оно не действует.

В настоящее время в результате работ Вепринцева Б. Н., Михельсона М. Я. (и его сотрудников), Турпаева Т. М., Хромова-Бо-



рисова Н. В. (и его учеников), Комиссарова И. В., Пидевич И. Н., Сейфуллы Р. Д. и других можно говорить о материальных субстратах, несущих рецепторную функцию.

В чем же заключается явление чувствительности, если использовать теорию о фармакологических рецепторах? Чувствительность регулируется (так же, как и реактивность) множеством биологически активных веществ, таких, как медиаторы (катехоламины, ацетилхолин); биогенные амины (гистамин, серотонин); гормоны (стероидные и белково-пептидные); местные гормоны (кинины и простагландины) и др. Для большинства из них обнаружены и достаточно полно изучены специальные молекулярные структуры — рецепторы. В процессе эволюционного развития организмы приобрели свойства выбирать, воспринимать, расшифровывать и передавать дальше химическими посредниками сигналы, идущие из высших регуляторных центров.

В результате дальнейшего развития теории фармакологической рецепции были синтезированы новые вещества.

Сложность работы в данном направлении объясняется следующим: 1) отсутствием единой теории фармакологической рецепции; 2) отсутствием достаточно чувствительных электронных аппаратов, которые могли бы зарегистрировать малейшие изменения со стороны конфигурации рецепторных молекул; 3) трудностью выделения рецепторных белков из биологического субстрата; 4) полиморфизмом и полифункциональностью рецепторов и т. д.

Дальнейший прогресс фармакологии связан с внедрением математических методов для объяснения кинетики той или иной биохимической реакции.

## § 2. Методологические вопросы биохимической фармакологии

В основе взаимодействия лекарственных веществ и биомолекул (например, нуклеиновых кислот, ферментов, альбумина и др.) лежат различные формы движения. Движение, по Ф. Энгельсу, следует рассматривать, как «способ существования материи, как внутренне присущий материи атрибут»\*, который обнимает собой все происходящие во Вселенной изменения и процессы, начиная от простого перемещения и кончая мышлением.

Взаимодействие биомолекул основано на молекулярной сигнализации и молекулярном узнавании. При этом одна молекула служит сигналом, а другая этот сигнал узнает, т. е. отличает одну молекулу от другой. Примером узнавания может быть взаимодействие фермента с субстратом, процессы репликации и транскрипции ДНК и т. д.

Молекулярными сигналами служат эндогенные низкомолекулярные биологически активные вещества: гормоны, нейромедиаторы,

\* Ф. Энгельс. Диалектика природы, 1969, с. 50.



нейромодуляторы, а также лекарства — экзогенные химические соединения, способные взаимодействовать и изменять функционирование различных биоструктур.

Таким образом, изучение механизмов молекулярного узнавания, т. е. взаимодействия комплементарных молекул-партнеров, — главная задача не только биофизики и биохимии, но и молекулярной фармакологии.

Широкое распространение за последние годы получил термин биодоступность лекарственного вещества. Он включает в себя транспорт лекарственного препарата в крови, проникновение через тканевые барьеры, взаимодействие с рецепторными молекулами (или даже с рецепторными системами). Следовательно, молекулы лекарственного вещества на пути своего движения могут взаимодействовать со множеством биологически активных молекул.

Накопилось много данных, свидетельствующих об отдельных этапах движения лекарственного вещества в организме. Иначе говоря, если для каждого вещества четко представлять его судьбу в крови, органах, клетках, то раскроется интереснейшая картина путей химической регуляции жизненно важных процессов в организме животных и человека.

При анализе реакций между лекарственными веществами и биомакромолекулами необходимо учитывать характер связи между ними, изменения физико-химических свойств молекул, таких, например, как конформационные перестройки белков и нуклеиновых кислот, что может изменить функции клетки. Наиболее важные из них — это проницаемость плазматических мембран, мембран субклеточных органелл, репрессия определенных оперонов в геноме клеток, индукция или ингибирование активности ферментов и пр.

Исследование зависимости химического строения лекарств и их действия должно включать ряд дополнительных физико-химических методов: расчет молекулярных орбит лекарственных веществ, оценку реакционной способности отдельных атомов в молекулах фармакологических агентов.

По аналогии с такими разделами биологической науки, как квантовая биофизика и квантовая биохимия, на современном этапе развития фармакологии самостоятельно оформляется квантовая фармакология. Исследования в области квантовой фармакологии, хотя довольно сложны и требуют высокой квалификации экспериментаторов, полезны для практического применения лекарственных веществ. Только таким образом удастся избежать порой бесплодных поисков в рядах дериватов какого-либо гомологического ряда и добиться значительной экономии финансирования экспериментов, так как фармакологи получают ценные сведения о реакционной способности молекулы фармакологического вещества, характеристике его полярных и неполярных группировок, конформации молекул, представления о стереоизомерии и т. п.

Для прогнозирования избирательного действия того или иного лекарственного вещества с рецепторами необходимо знать, какими группировками формируется силовое рецепторное поле и какими



индивидуальными свойствами обладает фармакологический препарат.

Фармакологи постоянно возвращаются к выяснению тканевой чувствительности к лекарственным веществам. Действительно, остается биологической загадкой, от чего зависит избирательность действия того или иного препарата. Поэтому важным аспектом современной фармакологии является изучение распределения лекарственных веществ в организме. Динамика их распределения зависит от ряда факторов: от связи с транспортными белками, проницаемости плазматических мембран, функции субклеточных структур, ассоциации с вне- и внутриклеточными рецепторами. Особенности этого распределения детерминируются физико-химическими свойствами лекарственных веществ. Целесообразно при изучении свойств любого препарата, рекомендованного в клиническую практику, особое внимание уделять путям распространения его в организме и метаболической трансформации с выявлением ферментных систем, ответственных за модификацию их химических и биологических свойств. Знание специфики ферментативной реакции в каждом конкретном случае поможет направленно регулировать длительность действия и токсичность лекарственных веществ. Таким образом, фармакологи смогут в экспериментальных условиях прогнозировать основные свойства фармакологических препаратов и увеличивать широту их терапевтического действия. При возникновении различных патологических процессов можно в качестве веществ-микрорегуляторов использовать метаболиты, образующиеся при биохимических реакциях.

Правильная оценка фармакокинетики чужеродного (или эндогенного) вещества приближает исследователя к пониманию трансформации определенного биологического сигнала, который несет это вещество. Особое внимание необходимо уделять «узнающим системам» (или «системам предпочтения»), которые находятся в компетентных клетках. При анализе результатов, полученных с помощью биохимических методов, необходимо проводить их логичную интеграцию, т. е. идти от молекулы к клетке, от клетки к органу, от органа к системе, от системы к организму.

Широкое распространение в фармакологии и смежных дисциплинах получили термины «орган-мишень», «клетка-мишень» и даже «молекула-мишень». С помощью этой терминологии исследователи пытаются найти выход из тупика, существующего из-за неизвестности, как объяснить различную чувствительность отдельных биологических структур к определенным фармакологическим веществам.

Необходимо подчеркнуть относительность приведенных понятий. Если, исследуя распределение одних веществ (например, глюкокортикоидов и половых гормонов), можно говорить об «органах-мишенях», то для других распространенных в клинике средств (например, для психотропных препаратов) такую закономерность пока обнаружить не удастся. Более точными и современными следует признать исследования, направленные на выявление внутриклеточ-



ного распределения веществ и их взаимодействия с биомакромолекулами (ферментами, ДНК, РНК, ДНП, РНП и др.).

Биомакромолекулами, вступающими в реакции с лекарственными веществами, могут быть нуклеиновые кислоты. В литературе широко обсуждается вопрос о возможности оценки ДНК как «молекулы-мишени». Действительно, этот поиск имеет большой биологический смысл. Если вещество избирательно действует на молекулу ДНК, то нарушаются в первую очередь процессы транскрипции. Все эти изменения приводят к нарушению кодирования генетической информации, т. е. некоторые биомакромолекулы могут быть «мишенями» для лекарственных веществ. Следовательно, теперь фармакологи располагают такими тончайшими химическими «инструментами», с помощью которых можно регулировать функции информационных биомакромолекул.

О том, правомочно ли ставить знак равенства между понятиями молекула-рецептор и «молекула-мишень» покажет ближайшее будущее. Для решения этого вопроса целесообразно установить различия между ними, так как общих черт достаточно много. Во всяком случае «молекула-мишень» может нести свойства рецептора.

Генетика позволяет по-новому рассматривать проблему фармакологической рецепции. Введение термина «генетическое предопределение рецепторов» оправдано. Постановка экспериментов на чистых линиях животных и ее безусловный успех приведет к осмысливанию генетических особенностей в действии лекарственных веществ.

Некоторые лекарственные препараты могут дерепрессировать или репрессировать матричную активность хроматина. Иными словами, имеется возможность регулировать функциональное состояние определенных оперонов и, таким образом, синтез рибонуклеиновых кислот, несущих информацию от матрицы к аппарату клетки, синтезирующему белок. Фармакогенетика (раздел фармакологии) имеет свои особенности как в смысле постановки задач исследования, так и соответствующих методов анализа структуры и функции нуклеиновых кислот и белка как биополимеров. В указанном плане представляется интересным изучение первичной, вторичной, третичной и четвертичной структуры ДНК и разных видов РНК при воздействии фармакологическими веществами, а также кинетики синтеза нуклеиновых кислот.

К поднимаемым вопросам близко стоит проблема лекарственной эмбриотоксичности и тератогенности. Если врачи научатся понимать и предотвращать эмбриотоксическое и тератогенное действие лекарственных веществ, с одной стороны, и направленно регулировать функциональное состояние генетического аппарата клеток, синтез ДНК, РНК и белка в определенных органах, с другой стороны, то практическое здравоохранение получит ключи к профилактике многих осложнений, вызываемых лекарственными веществами. Исследуя структуру и функцию клеточного ядра, ответственного за хранение и передачу генетической информации, можно наметить



новые пути регуляции его деятельности при помощи фармакологических препаратов.

Все фармакологические вещества действуют на скорость биосинтеза белка в клетках. Другое дело, на белковый обмен каких тканей (органов) и в каких дозах они действуют. При анализе специфики действия лекарственных веществ на биосинтез белка следует учитывать транспорт РНК из ядра на рибосомы. Как известно, некоторые агенты действуют на транспортные РНК, которые переносят активированные аминокислоты к рибосомам и совместно с рибосомальной РНК участвуют в объединении аминокислот в полипептид. При этом большое значение имеет ряд ферментных систем, в том числе и тех, которые генерируют энергию. Передача информации с одной биомакромолекулы на другую, активация аминокислот и их полимеризация являются процессами «уязвимыми» для воздействия химических соединений (нередко лекарственных веществ), что в принципе уже известно в молекулярной биологии и используется для уточнения механизмов биосинтеза белка.

Исследуя действие фармакологических препаратов на функции плазматических мембран и мембран субклеточных органелл, можно найти пути регуляции внутриклеточных процессов. Получены данные о связи мембранных структур клетки с двумя основными процессами, протекающими в клетке ■ обеспечивающими ее существование и репродукцию (имеется в виду прямая и обратная связь между функционированием клеточных мембран и активностью генетического аппарата клеток).

В частности, первичные изменения проницаемости плазматической мембраны, оболочки ядра и мембран митохондрий для ионов или метаболитов могут оказывать влияние на скорость синтеза различных видов РНК, что приводит к стимуляции синтеза белка на рибосомах. Последнее способствует вторичному изменению физико-химических характеристик клеточных мембран в результате индукции определенных ферментов, ответственных за реакции, протекающие в мембранах. Вместе с тем изменяются показатели липидного компонента мембранных структур: так действуют стероидные гормоны, витамины и другие физиологически активные соединения. Конечно, следует отметить схематичность предложенных внутриклеточных взаимодействий. Однако подобная интерпретация позволяет легче понять ту перманентность биохимических реакций, которые развиваются в ответ на введение фармакологического препарата.

Итак, с какими органеллами клеток могут взаимодействовать лекарственные вещества?

На первое место по степени изученности, ■ также по широте информации можно поставить митохондрии. Митохондрии — органеллы, снабжающие клетку благодаря специализированным биомеханизмам. Эта их функция тесно связана с внутренней мембраной, на которой расположена дыхательная цепь и система, генерирующая энергию. Как известно, молекулярный механизм действия некоторых фармакологических препаратов связан с их



влиянием на названные процессы. К таковым относятся антибиотики, наркотические анальгетики, антикоагулянты и др. Митохондрии функционируют с относительной автономией. Не останавливаясь на оригинальных концепциях о происхождении биогенеза митохондрий, необходимо подчеркнуть, что направленное фармакологическое воздействие на определенные молекулярные процессы, протекающие в митохондриях, позволит получить новую информацию о механизмах действия лекарственных веществ. В нашей стране фундаментальные работы, посвященные вопросам митохондриологии, проведены акад. Севериным С. Е., проф. Скулачевым В. П. и др.

Огромное большинство химических соединений, попадающих в организм извне и являющихся чужеродными, а также некоторые эндогенные субстраты (стероиды и др.) подвергаются энзиматическим превращениям в мембранах эндоплазматического ретикулума. Мембранная система канальцев и цистерн эндоплазматического ретикулума представляет собой динамический скелет почти всех клеток. Термины «микросомы» или «микросомальная фракция» применяются обычно для характеристики медленно оседimentирующей частицы клеток. Для идентификации составных частей микросомальной фракции необходимо использовать электронную микроскопию. Степень чистоты получаемого материала определяется методом ферментативного контроля с исследованием активности органеллоспецифических ферментов. Ведущую роль в процессах метаболизма биологически активных соединений играют реакции НАДФ·Н-зависимого гидроксилирования. Список гидроксилирующих реакций, протекающих в мембранах эндоплазматического ретикулума, весьма велик. Это прежде всего реакции окисления циклических и алифатических углеводов, стероидных гормонов, холестерина и т. д. Большое внимание уделяется рассмотрению молекулярных свойств гемопротеида цитохрома Р-450, который ответствен за реакцию гидроксилирования многих эндогенных веществ и ксенобиотиков.

Здесь нет необходимости перечислять возможные изменения лекарственных веществ, происходящие в результате воздействия ферментов ретикулума, но следует подчеркнуть, что даже малейшие модификации химической структуры физиологически активных веществ приводят к изменению функционирования клетки, органа и организма в целом. С другой стороны, некоторые лекарственные вещества приобретают фармакологическую активность при контакте с ферментами эндоплазматического ретикулума.

Еще одна группа органелл — лизосомы была открыта де Дювом. Эти образования ограничены липопротеидной мембраной и содержат более 60 гидролитических ферментов с оптимумом действия в кислой среде. Лизосомы нафаршированы ферментами, принимающими участие в катаболизме всех биологических субстратов — белков, нуклеиновых кислот, жиров и углеводов. Именно поэтому полезны экспериментальные исследования, которые охватывают фармакологическую регуляцию многочисленных лизосомальных



ферментов. Среди средств, влияющих на лизосомальную мембрану, следует отметить стабилизирующие и лабилизирующие вещества.

Таким образом, исследование действия фармакологических веществ на мембранные структуры клеток перспективно и дает много нового в понимании первичных фармакологических реакций и их последствий в клетке.

Рассмотрев влияние лекарственных веществ на отдельные субклеточные составные части, целесообразно остановиться на биогенных агентах, поддерживающих постоянство внутренней среды клетки. Среди них особый интерес представляют серотонин, гистамин, гепарин, простагландины, кинины, хорошо изученные биохимиками. Фармакологическая коррекция их содержания в организме тесно связана со сдвигами проницаемости клеток и гисто-гематических барьеров.

Для большинства из указанных биогенных веществ фармакобиохимическим путем найдены рецепторы. Поэтому, говоря о фармакологической регуляции биологически активных веществ, необходимо учитывать не только пути их синтеза и распада, но и воздействие лекарственных веществ на серотониновые, гистаминовые и другие рецепторы. То есть и в данном случае основополагающим остается утверждение, что фармакологическая реакция должна рассматриваться как генетически обусловленное биологическое явление.

Однако не все рецепторы генетически «предусмотрены» биохимическими организациями, так как для многих лекарственных веществ, которые следует классифицировать как чужеродные для организма человека и животных, также обнаружены рецепторы. В данном случае рецепторами могут служить или белковые компоненты клетки или же они индуцируются в виде новых молекул.

Мало разработанной областью фармакологии является изучение транспортных путей лекарственных веществ в организме человека и животных. Различные лекарственные вещества ■ зависимости от входящих ■ их состав группировок могут находиться или в свободном виде, или в связи с транспортными белками, или в виде метаболитов. В метаболизме лекарственных веществ, а также ■ переходе их в ткани особую роль выполняют ферментные белки, индуцированные ими.

В биохимической фармакологии, по-прежнему, доминирует принцип, сформулированный Кравковым Н. П., что любой фармакологический эксперимент необходимо осуществлять в условиях патологии, вызванной опытным путем. Иначе можно сделать ошибочные выводы.

Сведения, полученные в эксперименте, подчас трудно экстраполировать на человека. Однако исследования взаимоотношений между лекарствами и биомакромолекулами позволяют приблизиться к пониманию механизмов действия лекарственных веществ.

Вопросы физической химии  
к тому кругу фармакологической  
этой книге, довольно ра-  
нивать с одной стороны  
того или иного процесса  
ческой точки зрения, пр  
участие катализаторов,  
ру его внимания неизбе  
портные процессы вооб  
ти теории химической  
межмолекулярных сил  
ласти адсорбции. Наше  
более важных вопросов  
физическими указаниями  
тем, где это необходимо

ОБЩИЕ ТЕРМИНЫ  
РА

Химическая термодинамика  
рассматривает равновесие  
лагается, что любая сис-  
равно, или поздно придет  
важно выйти не может.  
Система может в нек  
гидрат в состоянии мета  
и в состоянии. Метаста-  
и в состоянии. Метаста-  
переход к совокупности  
всего того, что состав



# ЧАСТЬ I

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФАРМАКОЛОГИИ

---

Вопросы физической химии, имеющие непосредственное отношение к тому кругу фармакологических проблем, которые затронуты в этой книге, довольно разнообразны. Фармаколог должен уметь оценивать, с одной стороны, принципиальную возможность развития того или иного процесса, с другой — характеризовать его с кинетической точки зрения, принимая во внимание не только возможное участие катализаторов, но и эффекты сопряжения реакций. В сфере его внимания неизбежно входят электронные переносы и транспортные процессы вообще; он должен быть осведомленным в области теории химической связи, понимать особенности действия межмолекулярных сил в растворах, хорошо ориентироваться в области адсорбции. Нашей задачей является сжатое изложение наиболее важных вопросов физической химии, дополненное библиографическими указаниями, позволяющими расширить круг сведений там, где это необходимо.

### ГЛАВА I

#### ОБЩИЕ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ. РАВНОВЕСНЫЕ СИСТЕМЫ

##### § 1. Равновесие

Химическая термодинамика — часть общего учения об энергии — рассматривает равновесные состояния химических систем. Предполагается, что любая система, изолированная от внешней среды, рано или поздно придет в состояние, из которого она самопроизвольно выйти не может. Это состояние называют *равновесным*.

Система может в некоторых случаях неопределенно долго пребывать в состоянии метастабильного равновесия; это значит, что, будучи выведена из него, она способна перейти в еще более устойчивое состояние. Метастабильные равновесия распространены среди биологических систем. Для них абсолютное равновесие означает переход к совокупности сравнительно простых соединений и утрату всего того, что составляет неотъемлемые признаки жизни.



Еще чаще среди объектов исследования биолога и врача встречаются неравновесные системы, в которых непрерывно протекают какие-либо процессы. Поэтому для биологии большое значение имеет термодинамика неравновесных процессов, к сожалению, гораздо менее разработанная, чем классическая термодинамика.

## § 2. Законы термодинамики

Первое начало, или первый закон термодинамики, — частная форма закона сохранения энергии. При переходе системы из данного состояния в другое изменение внутренней энергии определяется только начальным и конечным состоянием, но не путем, по которому развивался процесс. Это значит, что внутренняя энергия есть функция состояния. Функции состояния обладают важным свойством: если система, совершив круговой процесс, возвращается в прежнее состояние, то общее изменение функции состояния равно нулю. Если бы дело обстояло иначе, можно было бы, проводя круговой процесс, безгранично увеличивать значение соответствующей функции. В применении к энергии это означало бы возможность создавать энергию из ничего. Вот почему утверждение, что внутренняя энергия есть функция состояния, равнозначно формулировке закона сохранения энергии: энергия не создается и не уничтожается, а лишь переходит из одной формы в другую.

Другой важной функцией состояния является *энтропия*. Эта функция позволяет отличить процесс, который может происходить самопроизвольно, от процесса, не обладающего этим свойством, т. е. «запрещенного» термодинамикой. К запрещенным процессам относится перенос теплоты от холодного тела к горячему, проведенный так, что при этом никаких других изменений в мире не произошло; превращение теплоты, отнятой у нагревателя целиком, в работу в круговом процессе (т. е. опять-таки при условии, что никаких других изменений в мире не происходит). Формулировка этих запретов и составляет содержание второго начала термодинамики. М. Планк формулировал второе начало так: невозможно построить машину, которая, работая циклами, не производила бы ничего другого, кроме подъема тяжести и охлаждения теплового резервуара.

Можно показать, что в соответствии с этим утверждением функция, называемая энтропией, в изолированной системе (т. е. при постоянных объеме и внутренней энергии системы) возрастает, если в системе совершается самопроизвольный необратимый процесс, и остается неизменной, если процесс обратим.

Таким образом, энтропия является функцией, изменение которой указывает нам на принципиальную возможность протекания данного процесса в изолированной системе.

Если система не изолирована, возможность протекания в ней самопроизвольных процессов определяется другими функциями, которые называются термодинамическими потенциалами. Здесь будет рассмотрен только один из них, так называемая энергия Гиббса.



### § 3. Термодинамические критерии выбора возможного направления реакции

На основании уравнения химической реакции еще ничего нельзя сказать о состоянии равновесия, в которое придет данная химическая система, и о том направлении, в котором будет преимущественно развиваться процесс изменения ее состава.

Термодинамика позволяет различить принципиально возможные в данных условиях процессы от тех, которые самопроизвольно протекать не могут. Будем считать, что температура и давление в условиях опыта постоянны, и примем во внимание, что в результате самопроизвольного процесса в системе ее способность совершать полезную работу всегда уменьшается.

Пусть система совершает не только работу расширения, но также и какую-либо иную работу, например электрическую, которая в дальнейшем будет обозначаться как полезная. Работа, следовательно, будет равна:

$$\delta W = pdV + \delta W_1, \quad (1)$$

где  $\delta W_1$  — полезная работа.

Напишем уравнение двух начал для обратимого процесса. В этом процессе система совершает максимальную работу:

$$TdS = dU + pdV + \delta W_1. \quad (2)$$

Преобразовав уравнение (2) так, чтобы выделить полезную работу, получим

$$\delta W_0 = TdS - dU - pdV = -d(U - TS + pV) = -d(H - TS),$$

(где  $H \equiv U + pV$ ) при постоянных  $p$  и  $T$  представляет собой полный дифференциал выражения  $G \equiv U - TS + pV = H - TS$  или (при  $T = \text{const}$ ),

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S. \quad (3)$$

Можно заметить, что при данной температуре убыль способности производить полезную работу есть сумма двух слагаемых: теплового эффекта  $\Delta H$  и произведения  $T\Delta S$  (характеризующего рассеяние энергии). Убыль работоспособности системы тем больше, чем больше при отрицательном тепловом эффекте прирост энтропии  $\Delta S$  в результате процесса.

Отрицательное значение  $\Delta G$  означает, что процесс (например, реакция лекарственного вещества с биосубстратом) принципиально возможен, так как сам собой может совершаться только процесс уменьшения работоспособности. Если изменение энтропии мало или равно нулю, то  $\Delta G = \Delta H$ . Это показывает, что для таких реакций возможно почти полное превращение теплоты в работу (при постоянных  $p$  и  $T$ , т. е. в закрытой системе). Наоборот, если  $\Delta S$  велико и отрицательно, т. е. энтропия убывает в итоге реакции, то член  $\Delta ST$  будет положительным и уменьшит отрицательную величину  $\Delta H$ . Наконец, если  $\Delta G$  окажется положительным, то процесс принципиально невозможен.



Функция  $G$ , таким образом, является критерием для оценки возможности протекания процесса в том или ином направлении. Надо иметь в виду, что возможно сопряжение процессов, в котором один процесс характеризуется большим отрицательным значением  $\Delta G_1$ , а другой имеет положительное  $\Delta G_2$ . Протекая совместно так, что первый доставляет работу, а второй ее поглощает, оба они образуют сопряженный процесс.

Энергия Гиббса — важнейшее средство исследования реакций метаболизма, хотя знание ее величины (точнее, изменения этой величины, так как абсолютное значение  $G$  определить нельзя) не дает еще оснований говорить о скорости той или иной реакции. В табл. 1 приведены термодинамические характеристики реакций.

Таблица 1

| Реакция                    | $T, K$ | $\Delta G_{298}^0$ ,<br>кДж | $\Delta H^0$ , кДж | $-T\Delta S$ ,<br>Дж | $\Delta S^0$ ,<br>Дж/град |
|----------------------------|--------|-----------------------------|--------------------|----------------------|---------------------------|
| $H_2 + 1/2 O_2 = H_2O (г)$ | 298    | -229,3                      | -242,8             | +13,4                | - 44,9                    |
|                            | 298    | -104,2                      | - 81,9             | -22,3                | + 78,5                    |
| $C + CO_2 = 2CO$           | 298    | +110,1                      | +173,0             | -52,9                | +177,2                    |
| $C + O_2 = CO_2$           | 298    | -395,6                      | -396,5             | - 8,4                | +214,2                    |
| Спиртовое брожение         | 298    | -239,9                      | - 71,4             | -157,5               | +533,4                    |

Полагая условно значение  $\Delta G$  для чистых простых веществ равным нулю, можно вычислить значение  $\Delta G_{298}^0$ , характеризующее данное вещество при определенных стандартных условиях ( $T = 298 K$  и  $p = 1000$  Па). Особенно важно вычислить значение  $\Delta G_{298}^0$  для реакции при стандартных условиях и концентрациях всех участников реакции, равных единице (1 моль/л). Эта величина позволяет найти константу равновесия реакции  $K$ , с которой она связана простым соотношением —  $\Delta G^0 = RT \ln K$ , и, следовательно, производить сравнительные оценки выхода того или иного продукта в результате процесса.

$\Delta G_{298}^0$  реакции  $H_2 + 1/2 O_2 = H_2O$  имеет отрицательную величину. Энтропия этой реакции (изменение энтропии) отрицательна. Это значит, что член  $(-T\Delta S)$  положителен и с ростом температуры величина энергии Гиббса должна убывать. При какой-то температуре  $\Delta G$  станет равным нулю. Это состояние равновесия, в котором скорость образования воды равняется скорости ее разложения, и концентрации всех участников реакции перестают изменяться. Отрицательное значение энтропии связано с сокращением объема в результате образования водяного пара. В общую величину изменения энтропии при реакции изменение объема газов вносит обычно наиболее значительный вклад.

Термодинамические параметры — количественные характеристики взаимодействия биомакромолекул с фармакологическими агентами. На практике значения  $\Delta G_{298}^0$  колеблются от 92,4 до 12,6 кДж/моль, что соответствует константам диссоциации от  $10^{-15}$  до  $10^{-2} M$  (табл. 2).

Значения  $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$ , рассчитанные для того или иного комплекса, не служат критерием сил, участвующих в данном взаимодействии, поскольку термодинамика не зависит от молекулярных



механизмов. Однако термодинамические параметры позволяют понять природу комплексообразования. Если, например,  $\Delta H$  мало, то сродство молекул-партнеров объясняется в первую очередь положительными изменениями энтропии. А увеличение энтропии при образовании комплекса между двумя отдельными частицами указывает на то, что растворитель (десольватация) играет главную роль в этом процессе. В табл. 2 приведена энергия Гиббса, соответствующая образованию некоторых комплексов белков с лигандами.

Таблица 2

| Белок          | Лиганд | $\Delta G_{298}^0$ ,<br>кДж | Белок          | Лиганд  | $\Delta G_{298}^0$ ,<br>кДж |
|----------------|--------|-----------------------------|----------------|---------|-----------------------------|
| Авидин         | Биотин | -84                         | Лактатдегидро- | НАДН    | -36,9                       |
| Лак-репрессор  | ДНК    | -92,4                       | геназа         | АНС     | -35,2                       |
| АнтиДНФ-гло-   | ДНФ-   | -50,4                       | Сывороточный   |         |                             |
| булин          | лизин  |                             | альбумин       | 1-малат | -10,5                       |
| Алкогольдегид- | НАДН   | -37,8                       | Фумараза       | Фумарат | -12,6                       |
| рогеназа       |        |                             |                |         |                             |

Если отнести величину  $\Delta G_{298}^0$  данного соединения к одному молю, то получим меру изменения работоспособности системы при введении в нее или выведении из нее одного моля данного вещества. Эта величина называется химическим потенциалом  $\mu$  и имеет большое значение в различных физико-химических расчетах;  $\mu = G/n$ , где  $n$  — число молей\*.

Это объясняется тем, что разность химических потенциалов является «движущей силой» реакции и когда в реагирующей системе, например в системе из двух веществ А и В:  $A \rightleftharpoons B$ , наступает равновесие, химические потенциалы А и В делаются равными:

$$\mu_A = \mu_B. \quad (4)$$

Химический потенциал зависит от концентрации, и в случае идеального газа эта зависимость очень проста:

$$\mu_i = RT \ln x_i + \mu_i^0, \quad (5)$$

где  $x_i = n_i / \sum n_i$ .

Если же вещество не следует законам идеального газа, то форму зависимости сохраняют, но вместо концентрации вводят в уравнение так называемую «активность»  $a$ , т. е. исправленную концентрацию [концентрацию, умноженную на поправочный коэффициент (коэффициент активности), учитывающий отклонение системы от идеальности]. Это формальный прием, и коэффициенты приходится находить опытным путем, но тем не менее практически пользование активностями вполне оправдано, так как нахождение истинных уравнений состояния для сложных систем дело крайне трудное.

\* Для однокомпонентных систем.



Химический потенциал по существу и дает определение активности:

$$\mu_i = RT \ln a_i + \mu_i^0, \quad (6)$$

где  $\mu_i^0$  — постоянная.

В системах, в которых действуют электрические силы и возникают различные концентрации, поддерживаемые разностями потенциалов, приходится учитывать и работу электрических сил. Примером могут служить возникновение разностей потенциалов на границах раздела фаз (электродные потенциалы) и различные случаи мембранных равновесий в системах, содержащих электролиты (равновесие Доннана).

#### § 4. Равновесие Доннана

Своеобразные явления наблюдаются в гетерогенных системах, представляющих собой гели или растворы, разделенные мембраной, не пропускающей макромолекулярные ионы, но проницаемой для обычных ионов. И в том и другом случае ограничение накладывается на движение крупных ионов, например, высокомолекулярных анионов  $R^-$  (это может быть и анион белковой природы). Равновесные состояния в таких системах соответствуют, как показал Доннан, неравномерному распределению электролита по обе стороны мембраны (или в геле и растворе).

Пусть мембрана разделяет раствор I, содержащий высокомолекулярные анионы  $R^-$ , низкомолекулярные анионы  $A^-$  и соответствующее количество низкомолекулярных катионов  $M^+$ , и раствор II, в котором находится только низкомолекулярный электролит  $MA$ , диссоциированный полностью на ионы  $A^-$  и  $M^+$ .

В состоянии равновесия полные потенциалы ионов, находящихся по обе стороны мембраны, равны друг другу и можно написать:

$$RT \ln a_{M^+}^I + FE_I = RT \ln a_{M^+}^{II} + FE_{II}; \quad (7)$$

$$RT \ln a_{A^-}^I + FE_I = RT \ln a_{A^-}^{II} + FE_{II}, \quad (8)$$

где  $F$  — число Фарадея;  $E$  — потенциалы. Отсюда:

$$a_{M^+}^I + a_{A^-}^I = a_{M^+}^{II} + a_{A^-}^{II} \quad (9)$$

(равновесие Доннана), или, полагая, что активности в не слишком концентрированных растворах можно заменить просто концентрациями,

$$C_{M^+}^I + C_{A^-}^I = C_{MA}^2.$$

Отсюда следует, что если раствор высокомолекулярного электролита  $MA$  находится по одну сторону мембраны, а по другую — раствор низкомолекулярного электролита, то перенос его через мембрану будет зависеть не только от его собственной концентрации, но и от концентрации высокомолекулярного аниона. Действительно, если  $x$  исходная концентрация аниона  $R^-$  и  $M^+$ , а  $C_0$  исходная концентрация  $MA$  снаружи мембраны, то после переноса  $n$

Доннан  
брана

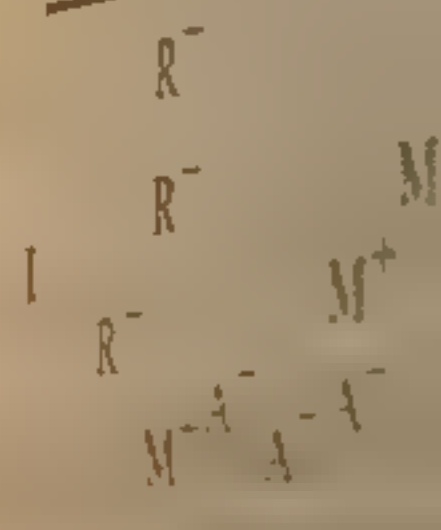


Рис. 1. Мембрана

та  $MA$  в отсутствие высокомолекулярных анионов свободно движется. На рис. 1, б показано, что ионы  $A^-$  и  $M^+$  движутся через мембрану. Для достижения равновесия в растворе II в раствор I, это приводит к разности потенциалов. Разность химических потенциалов по обе стороны мембраны.

§ 5. Термодинамика  
Рассмотрим процесс, как в системе, состоящей из двух частей, одна из которых отделена от другой мембраной. Взаимодействие между частями системы происходит через мембрану. Взаимодействие между частями системы происходит через мембрану. Взаимодействие между частями системы происходит через мембрану.



молей электролита через мембрану имеем:  $(x+n)n = (C_0 - n)^2$  и

$$n = C_0^2 / (x + 2C_0). \quad (10)$$

Доннановское распределение электролита по обе стороны мембраны ведет к появлению разности потенциалов между растворами I и II. Рис. 1, а отвечает равномерному распределению электроли-

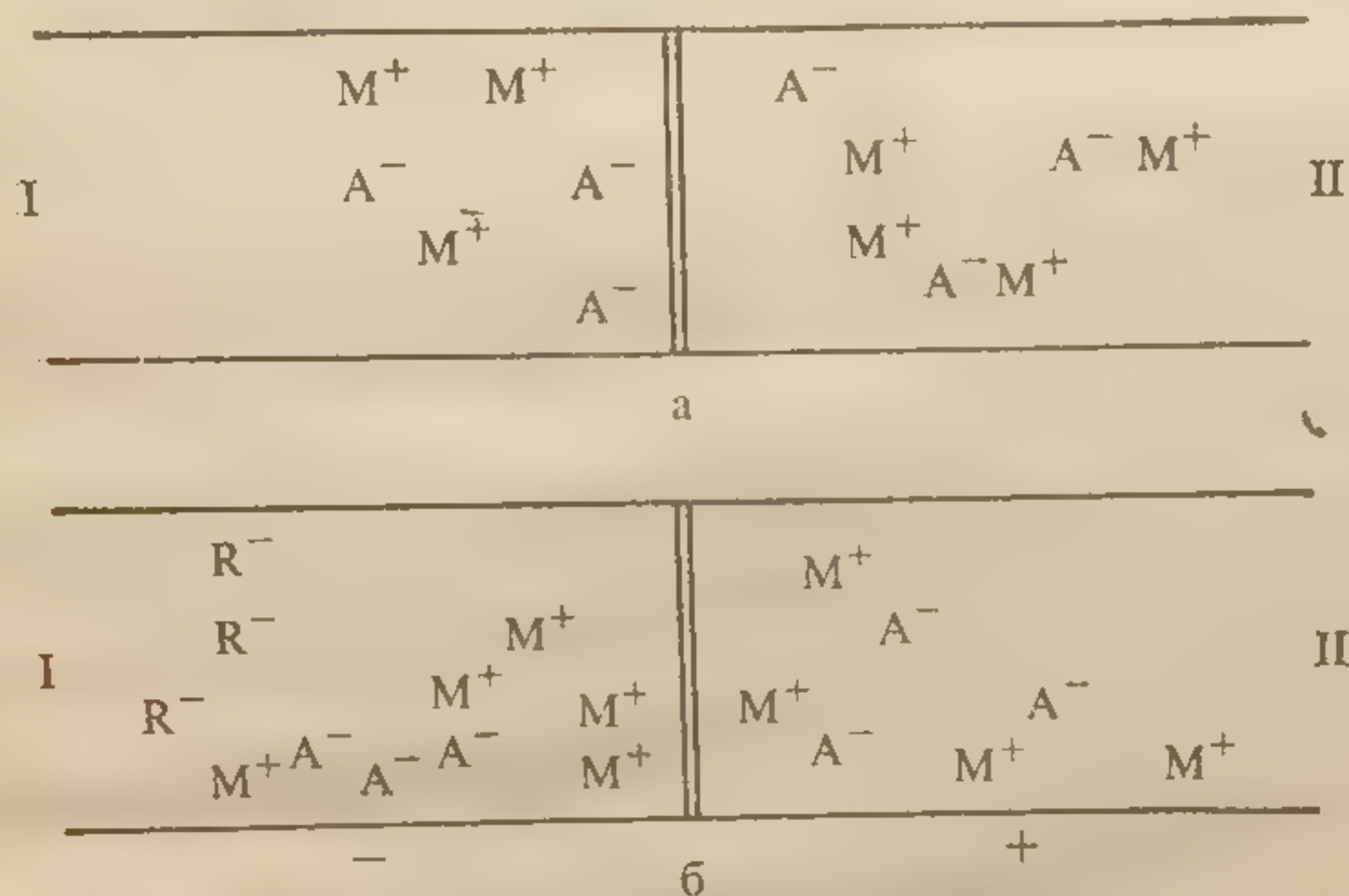


Рис. 1. Мембранное равновесие Доннана

та МА в отсутствие высокомолекулярного компонента. Катионы и анионы свободно движутся через мембрану.

На рис. 1, б показано, что получается при введении в I электролита с высокомолекулярным анионом, который не может пройти через мембрану. Для достижения электронейтральности растворов I и II один из катионов  $M^+$  должен пройти через мембрану из раствора II в раствор I; это приведет к изменению концентраций ионов в растворах.

Разность потенциалов можно вычислить, приравняв  $EF$  ( $z=1$ ) разности химических потенциалов катионов или анионов по обе стороны мембраны:

$$\Delta E = \frac{RT}{F} \ln \frac{a_{+}^{II}}{a_{+}^{I}} = \frac{RT}{F} \ln \frac{a_{-}^{I}}{a_{-}^{II}}.$$

## § 5. Термодинамика необратимых процессов

Реальные процессы, как уже указывалось, всегда в той или иной мере необратимы. Биологические системы по отношению к среде находятся в состоянии, сильно отличающемся от равновесного. Организм, как и клетка, есть динамическая, диссипативная организация. Это значит, что ее существование поддерживается за счет потоков вещества и энергии и «окупается» ценой постоянного прироста энтропии в сложной системе организм — среда. Классическая термодинамика рассматривает только равновесные состояния, и поэтому первая трудность, с которой встречается биолог, пытающийся применить эту науку для решения своих задач, заключается в том, чтобы неравновесные организации рассматривать как приблизительно равновесные. Это дает возможность пользоваться такими понятиями, как энтропия, температура и т. п. Решение проблемы,



хотя далеко не лучшее, нашли ■ принципе «локального равновесия». В большинстве практически встречающихся случаев можно разделить систему на небольшие области и рассматривать их как равновесные. Лишь очень резкие перепады (большие градиенты) термодинамических величин, которые в биологии не наблюдаются, нарушают принцип локального равновесия.

Вторая трудность сводится к отысканию такого критерия направления процесса, который мог бы заменить ■ необратимых реакциях энтропию и термодинамические потенциалы. Для замены этих функций состояния И. Пригожин предложил производную энтропии по времени, которая хотя и не является полным дифференциалом, все же имеет явную тенденцию стремиться к минимуму, когда необратимый процесс переходит ■ устойчивый режим.

Этот принцип — стремление производной энтропии по времени к минимуму — был положен И. Пригожиным и Виамом в основу выбора критерия эволюции данной биологической организации к стационарному (динамически устойчивому) состоянию.

Взгляды И. Пригожина были проверены (А. Зотин и др.), и оказалось, что биологические системы далеко не всегда следуют этим принципам. Позже И. Пригожин ввел в качестве критерия вторую производную энтропии по времени, а Дьярмати объединил принцип И. Пригожина с принципом, который еще ■ 1931 г. был предложен Онзагером (принцип наименьшего рассеяния энергии), используя функции рассеяния, зависящие и от потоков, и от сил. Нельзя, однако, сказать, что эти ценные в теоретическом отношении исследования открыли новые перспективы ■ биологии. Трудность заключается ■ том, что ■ сложных биологических системах нет линейных зависимостей между потоками и силами, а энтропия, в силу ее малой чувствительности к структурным перестройкам, не является величиной, характеризующей устойчивость.

## ГЛАВА 2 ХИМИЧЕСКАЯ КИНЕТИКА

### § 1. Скорость реакции

Химическая кинетика изучает закономерности, которым подчиняется развитие химической реакции во времени.

Все уравнения формальной кинетики базируются на законе действия масс, но в зависимости от характера отдельных стадий реакции дифференциальное уравнение, связывающее скорость и концентрации реагента, будет различным, и решение его тоже будет индивидуальным в каждом случае. Различные механизмы реакции могут соответствовать одному и тому же кинетическому уравнению. Для доказательства, что реакция идет именно по данному, а не по какому-либо иному пути, всегда требуется ее дополнительное исследование, например, спектроскопическое изучение промежуточных стадий, химический анализ этих продуктов и т. п.

Скорость реакции определяется как производная концентрация по времени при постоянном объеме. Чем меньше интервал времени, к которому относится изменение концентрации, тем ближе экспериментально определяемая скорость к истинной (т. е. скорость в данный момент). Пусть ■ объеме  $V$  находится  $n$  молей вещества, тогда концентрация будет равна:  $C = n/V$ . Дифференцируя по времени, находим в общем случае

$$\frac{dC}{dt} = \frac{1}{V} \frac{dn}{dt} - \frac{n}{V^2} \frac{dV}{dt}. \quad (11)$$

Если объем, в котором совершается реакция, не зависит от времени, производная  $\frac{dV}{dt} = 0$  и

$$\frac{dC}{dt} = \frac{1}{V} \frac{dn}{dt}.$$



В большинстве случаев объем остается постоянным и скорость реакции выражается уравнением (2). Скорость можно измерить, наблюдая за возрастанием концентрации получающегося вещества или за уменьшением концентрации исходного. Например, в реакции  $A \rightarrow B$  можно либо измерять прирост концентрации  $B$ , либо убыль концентрации  $A$ . Но в первом случае с увеличением аргумента (времени) функция (концентрация  $C_B$ ) растет и производная положительна, а во втором — с ростом аргумента функция уменьшается и производная концентрация ( $C_A$ ) во времени отрицательна. Скорости реакций всегда положительны и поэтому перед производной  $dC_A/dt$  надо поставить минус. Для данного примера можно записать:  $-\frac{dC_A}{dt} = \frac{dC_B}{dt}$ .

Обозначив число молей  $A$  в объеме  $V$  через  $a$  и число молей  $B$  в том же объеме — через  $b$ , получим:

$$-\frac{1}{V} \frac{da}{dt} = \frac{1}{V} \frac{db}{dt}; \quad -\frac{da}{dt} = \frac{db}{dt}.$$

Иногда удобно выражать скорость через число молей  $x$  вещества, вступившего в реакцию. Пусть в начальный момент реакции в смеси было  $a_0$  молей вещества  $A$  и по истечении некоторого промежутка времени прореагировано  $x$  молей его. Тогда, следовательно, осталось  $(a_0 - x)$  молей вещества  $A$  и скорость реакции будет равна:

$$-\frac{dC_A}{dt} = \frac{1}{V} \frac{d(a_0 - x)}{dt} = -\frac{1}{V} \frac{dx}{dt},$$

так как  $\frac{da_0}{dt} = 0$ . Очевидно также, что для реакции  $A \rightarrow B$   $\frac{dx}{dt} = \frac{db}{dt}$ ; если в начале реакции вещества  $B$  не было вовсе, т. е. если  $b_0 = 0$ .

## § 2. Закон действия масс. Молекулярность реакции

Экспериментальный материал, а затем и теоретические методы позволили сформулировать основной закон химической кинетики — закон действия масс. Согласно этому закону, скорость реакции пропорциональна произведению концентраций реагирующих веществ.

Минимальное число молекул, при наличии которого еще возможен элементарный акт данной реакции, называют ее молекулярностью. Реакция, для осуществления элементарного акта которой необходима всего одна частица, называется мономолекулярной:  $A \rightarrow P$ , где  $P$  — продукты реакции. Кинетическое уравнение такой реакции очень просто:

$$-\frac{dC}{dt} = k_1 C. \quad (12)$$

Следует помнить, что обратное заключение неверно: реакция может следовать уравнению (12), но не быть в действительности мономолекулярной. Произведя интегрирование этого уравнения, находим:

$$-\int \frac{dC}{C} = \int k_1 dt; \quad -\ln C = k_1 t + \text{const}, \quad (13)$$

где константа  $k_1$  называется константой скорости реакции. Она численно равна той скорости, которая получается при концентрации,



равной единице. Ее размерность выражается обратной величиной времени:

$$[k_1] = \frac{[dC]}{[C]} \left[ \frac{1}{dt} \right] = \left[ \frac{1}{t} \right]. \quad (14)$$

Чтобы можно было судить о влиянии химической природы веществ на скорость реакции, необходимо сравнивать скорости, измеренные при равных концентрациях, т. е. надо сопоставлять не скорости вообще, а именно константы скорости.

Константа скорости мономолекулярной реакции показывает долю, которую составляют молекулы, вступившие в реакцию за единицу времени, от общего числа молекул, имеющих в данный момент. Мономолекулярному закону следуют реакции разложения некоторых углеводородов, а также процессы распада атомов радиоактивных веществ.

Из уравнения (13) ясно, что при  $t=0$  (в начальный момент)  $\text{const} = -\ln C_0$  — есть концентрация в тот момент, с которого начинается отсчет времени, поэтому

$$-\ln \frac{C}{C_0} = k_1 t, \text{ или } C = C_0 e^{-k_1 t}. \quad (15)$$

Из уравнения (6) видно, что  $C \rightarrow 0$  при  $t \rightarrow \infty$ . По этой причине нельзя указать время, в течение которого распадается все вещество. Это время практически неопределенно, так как нет уверенности, что уравнение будет справедливо при очень малых концентрациях. Обычно указывают период, в течение которого распадается половина имеющегося вещества, т. е. период полураспада ( $t_{1/2}$ ). Если прошло время  $t_{1/2}$ , то концентрация уменьшилась наполовину:

$$\frac{C}{C_0} = \frac{1}{2} = e^{-k_1 t_{1/2}}, \text{ или } k_1 t_{1/2} = \ln 2 = 0,693. \quad (16)$$

Соотношение (16) показывает, что по константе скорости можно оценить и период полураспада (или период полупревращения) и наоборот.

Бимолекулярная реакция требует для осуществления элементарного акта уже двух частиц (атомов, молекул, ионов или радикалов). По закону действия масс можно для реакции типа  $A + B = C$  написать уравнение

$$-\frac{dC_A}{dt} = k_2 C_A C_B. \quad (17)$$

Бимолекулярных реакций очень много; часто сложные реакции протекают через ряд промежуточных бимолекулярных стадий. Интегрирование уравнения (17) дает различные результаты, смотря по тому, равны друг другу концентрации  $C_A$  и  $C_B$  или различаются. Если они равны ( $C_A = C_B$ ), то  $\frac{1}{C} - \frac{1}{C_0} = k_2 t$ . Здесь



также  $C \rightarrow 0$  при  $t \rightarrow \infty$ , так как исходная концентрация  $C_0$  постоянна. Если  $A_A \neq C_B$ , то

$$\frac{1}{C_B^0 - C_A^0} \ln \frac{C_B^0 - x}{C_A^0 - x} + \text{const} = k_2 t. \quad (18)$$

Если бимолекулярная реакция  $A + B \rightarrow P$  протекает в условиях, когда концентрация одного вещества, например  $B$ , очень велика и практически не изменяется в течение периода времени, за который производятся кинетические измерения, то концентрацию  $B$  можно считать постоянной. Уравнение такой реакции будет выглядеть как уравнение мономолекулярного процесса:

$$C_B = \text{const}; \quad -\frac{dC_A}{dt} = k_2 \text{const} C_A = k C_A. \quad (19)$$

В действительности же реакция идет через двойные столкновения. Этот пример показывает, что вид кинетического уравнения не может служить доказательством того или иного механизма реакции. В сложных реакциях формальное кинетическое уравнение часто содержит концентрации в дробных степенях, и это не должно вводить исследователя в смущение. Уравнение в суммарной форме выражает сложный, возможно многостадийный процесс, для анализа которого требуются дополнительные данные.

Для характеристики кинетики процесса пользуются понятием *порядка реакции*. Порядок реакции есть сумма всех показателей степеней при концентрациях в кинетическом дифференциальном уравнении для скорости реакции. Например, в уравнении  $-\frac{dC}{dt} = k C_A C_B$  порядок будет равен 2; в уравнении

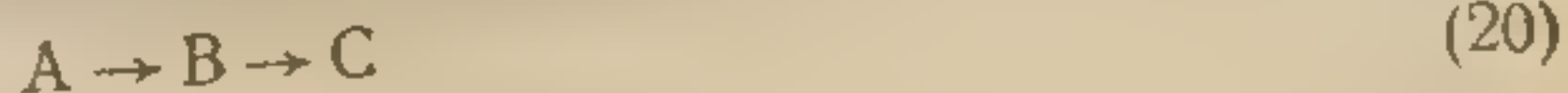
$$-\frac{dC}{dt} = k C_A^2 C_B \quad \text{порядок равен 3; уравнение } -\frac{dC}{dt} = k \quad \text{имеет порядок,}$$

равный нулю. Возможны, хотя и очень немногочисленны, реакции, у которых элементарный акт действительно требует столкновения трех частиц. Это событие гораздо менее вероятно, чем столкновение двух частиц, но тем не менее такие реакции наблюдаются. К ним, в частности, относится восстановление оксида азота водородом:  $2\text{NO} + \text{H}_2 \rightleftharpoons \text{N}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$ .

### § 3. Последовательные реакции

Реакции, в которых продукт, получающийся после завершения первой стадии процесса, вступает в следующую, для которой он является уже исходным веществом, называются *последовательными*. Эти реакции особенно характерны для взаимодействия лекарственных веществ с биомакромолекулами, в основе которого лежат биокаталитические превращения.

Математическая обработка последовательных реакций, в которых стехиометрические коэффициенты отличаются от единицы, крайне сложна и иногда вообще аналитически невыполнима. Поэтому ограничимся рассмотрением простейшего случая, когда эти коэффициенты во всех стадиях равны единице. Простейшая схема, следовательно, будет такова:





Обозначим константы скорости первой и второй стадий  $k_1$  и  $k_2$ , соответственно, и допустим, что обе стадии практически необратимы. В начальный момент имеем  $a_0$  молей вещества А; по истечении времени  $t$  число молей А уменьшилось и появляются вещества В и С. Теперь числа молей А, В, С равны  $a$ ,  $b$ ,  $c$ .

Имея в виду, что  $a_0 = a + b + c$ , можно найти и число молей конечного вещества, образовавшегося через промежуток времени  $t$ :

$$C = \frac{a_0}{k_2 - k_1} [k_2(1 - e^{-k_1 t}) - k_1(1 - e^{-k_2 t})]. \quad (21)$$

Отношение  $k_1/k_2$  равно обратному отношению периодов полураспада А и В, т. е.

$$\frac{k_1}{k_2} = b/a = \frac{t_{1/2}^{(a)}}{t_{1/2}^{(b)}} \quad (\text{«вековое» равновесие}). \quad (22)$$

В этом случае концентрацию В можно считать постоянной — очень малой. Вещество В играет роль неустойчивого промежуточного продукта. При условии, что  $k_2 \ll k_1$ , вещество В накапливается со скоростью  $\frac{db}{dt} = k_1 a_0 e^{-k_1 t}$ , затем медленно расходуется, превращаясь в С. Скорость этой медленной стадии выражается уравнением

$$\frac{dC}{dt} = k_2 a_0 e^{-k_1 t}. \quad (23)$$

Самая медленная стадия определяет кинетику всего процесса.

#### § 4. Диффузия

В отсутствие внешних сил растворенное вещество равномерно распределяется по всей массе раствора. Если же в какой-либо области раствора концентрация повышена, то возникает поток вещества от высоких концентраций к низким — процесс переноса массы. Аналогичные процессы возникают при колебаниях концентраций в газах и твердых телах. Количество вещества, перенесенное за единицу времени через площадку  $S$ , пропорционально градиенту концентрации  $\frac{dC}{dx}$  в направлении диффузии:

$$q = -DS \frac{dC}{dx}. \quad (24)$$

Уравнение (24) выражает *первый закон Фика*. Индивидуальные свойства веществ учитываются коэффициентом пропорциональности  $D$ , который называется *коэффициентом диффузии*. Знак «—» поставлен потому, что с ростом  $x$  концентрация уменьшается, т. е.  $\frac{dC}{dx} < 0$ , а значение  $q$  должно быть положительным.

В процессе диффузии концентрация в данной точке раствора меняется. Для вычисления изменения концентрации во времени в



некотором элементарном объеме раствора, т. е. для определения производной  $\frac{dC}{dt}$  надо принять во внимание, что это изменение равно разности количеств вещества, входящего в выделенный объем и выходящего из него. Расчет приводит к уравнению

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2}, \quad (25)$$

выражающему второй закон Фика и связывающему производную концентрации по времени с производной по координате. Если диффузия происходит по трем осям координат, то получается уравнение

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left( \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right) = D \nabla^2 C. \quad (26)$$

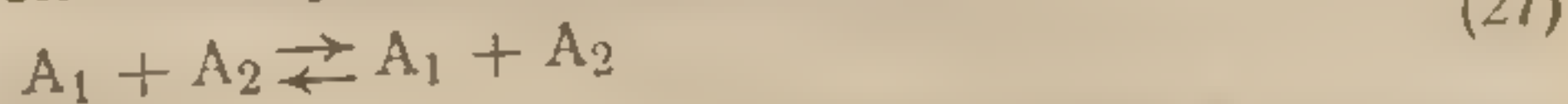
Символ  $\nabla^2$  (читается «набла два») означает операцию взятия вторых производных по координатам и суммирование этих производных.

С процессами диффузии часто приходится сталкиваться в биологических исследованиях. Диффузия играет существенную роль при движении вещества в межклеточном пространстве, в явлениях газообмена, в деятельности мембран клеток и т. п. Количество вещества, перенесенное за единицу времени через мембрану, пропорционально не только градиенту концентрации и поперечному сечению, но и коэффициенту  $R$ , называемому константой проницаемости и зависящему от индивидуальных свойств мембраны.

В биологических системах перенос массы часто происходит против градиента концентрации («активные переносы»); это явление не означает неприменимости закона Фика к процессам в клетках. В случае активных переносов всегда имеется какой-либо источник энергии, сопряженный с механизмом переноса и совершающий работу, необходимую для движения вещества против градиента концентрации.

## § 5. Химическая обратимость

По мере химического превращения в смеси реагирующих веществ появляются продукты реакции. Взаимодействуя друг с другом, продукты реакции снова образуют исходные вещества:



Способность реакции протекать в двух направлениях есть химическая обратимость\*.

Хотя принципиально все химические реакции обратимы, часто встречаются случаи, когда на первый план выступает реакция, идущая в одном каком-либо направлении. Это наблюдается, напри-

\* Ее не следует смешивать с термодинамической обратимостью. Течение химических реакций очень часто происходит в условиях, далеких от тех, которые отвечают процессу, обратимому в термодинамическом смысле.



мер, если продукты химического превращения быстро удаляются из сферы реакции или при очень больших концентрациях исходных веществ, когда скорость реакции в одном направлении значительно превышает скорость обратного процесса.

В дальнейшем будем считать, что скорость данной реакции не зависит от скорости остальных и определяется концентрациями реагирующих веществ. Этот принцип, проверенный экспериментально, называется *принципом независимости отдельных реакций*. Кинетическое исследование обратимой реакции несколько сложнее. Приходится принимать во внимание, что исходное вещество не только расходуется по прямой реакции, но и образуется по обратной. Пусть объем реакционной смеси постоянен;  $a$  и  $b$  — начальные количества молей веществ А и В;  $k_1$  и  $k_2$  — константы скоростей реакции  $A \xrightleftharpoons[k_2]{k_1} B$ . Тогда можно написать

$$-\frac{d(a-x)}{dt} = k_1(a-x) - k_2(b+x), \quad (28)$$

где  $x$  — число молей вещества А, вступивших в реакцию;  $x$  равно и числу молей вещества В, получившихся в результате реакции. Отсюда

$$\frac{dx}{dt} = (k_1 + k_2) \left( \frac{k_1 a - k_2 b}{k_1 + k_2} - x \right). \quad (29)$$

Обозначим выражение:  $(k_1 a - k_2 b) / (k_1 + k_2) = Q$ . Тогда

$$\frac{dx}{dt} = (k_1 + k_2) (Q - x),$$

или

$$\frac{dx}{Q - x} = (k_1 + k_2) dt. \quad (30)$$

Интегрирование уравнения (30) дает:

$$k_1 + k_2 = \frac{1}{t} \ln \frac{Q}{Q - x}. \quad (31)$$

Отношение констант  $k_1/k_2$  есть константа равновесия  $K$ . Из выражения  $Q$  следует, что

$$\frac{K a - b}{K + 1} = Q. \quad (32)$$

В момент времени, соответствующий равновесию, число молей веществ А и В становится постоянным; обозначив значение  $x$  в состоянии равновесия  $x_e$ , получим:

$$-\frac{d(a-x)}{dt} = 0;$$

$$k_1(a - x_e) = k_2(b + x_e); \quad (33)$$

$$K = \frac{k_1}{k_2} = \frac{b + x_e}{a - x_e}. \quad (34)$$



Следовательно, определив  $x_e$ , можно найти величину константы  $K$ , а зная  $K$ , из уравнений (34), (31) и (32) находим и константы скоростей  $k_1$  и  $k_2$ .

Прямые измерения констант скоростей при комплексообразовании белков с низкомолекулярными соединениями методом остановленной струи показали, что связывание лигандов не сопровождается большими значениями энтропии или энтальпии активации. Обычно комплекс белка с лигандом образуется за несколько микросекунд. Скорость связывания, поскольку она велика, не является лимитирующим фактором для кинетики биологических процессов, но она контролирует (определяет) кинетику структурных изменений самого связывающего белка.

## § 6. Энергия активации

Необходимым этапом многих химических превращений является столкновение молекул. Однако подсчет числа столкновений, выполненный при помощи кинетической теории, показал, что далеко не каждое столкновение ведет к реакции.

С. Аррениус высказал мысль, что реакционноспособными являются не все, а только активные молекулы. Для того чтобы при столкновении произошла химическая реакция, молекулы в момент столкновения должны иметь некоторый избыток энергии над средней энергией\*.

Избыточная энергия называется *энергией активации*. Именно в результате этого многие реакции, которые вполне возможны, задерживаются или практически не протекают.

Чем больше энергия активации, тем медленнее при данной температуре идет реакция; снижение энергии активации вызывает увеличение скорости процесса. Аррениус выразил зависимость константы скорости от температуры уравнением

$$\ln k = \frac{A}{T} + B, \quad (35)$$

где  $A$  и  $B$  — константы, характерные для данной реакции.

С другой стороны, константа равновесия при постоянных  $p$  и  $T$ , равная соотношению скоростей прямой и обратной реакций, зависит от температуры следующим образом:

$$\frac{d \ln K}{dT} = \frac{d \ln \frac{k_1}{k_2}}{dT} = \frac{\Delta H}{RT^2}. \quad (36)$$

Отсюда

$$\frac{d \ln k_1}{dT} - \frac{d \ln k_2}{dT} = \frac{\Delta H}{RT^2}. \quad (37)$$

\* Вдоль линии столкновения.



Но теплоту реакции  $\Delta H$  при  $p = \text{const}$  можно представить как разность энергии активации прямой и обратной реакций:

$$E_2 - E_1 = Q_p = -\Delta H$$

II

$$\frac{d \ln k_1}{dT} - \frac{d \ln k_2}{dT} = \frac{E_1 - E_2}{RT^2} \quad (38)$$

Можно предположить, что вообще существует зависимость

$$\frac{d \ln k}{dT} = \frac{E}{RT^2} + C, \quad (39)$$

где  $C$  — константа, одинаковая для прямой и обратной реакций. Аррениус показал, что  $C=0$ . В этом случае интегрирование дает:

$$\ln k = \frac{E}{RT} + B, \quad (40)$$

где  $B$  — константа интегрирования. Таким образом,

$$k = e^{-\frac{E}{RT} + B} = e^B e^{-\frac{E}{RT}} \text{ или } k = k_0 e^{-\frac{E}{RT}} \quad (41)$$

Уравнение (41) выражает зависимость константы скорости реакции от величины энергии активации и температуры. Для определения энергии активации строят график зависимости логарифма константы скорости  $\ln k$  от обратной температуры  $1/T$ . При этом, если закон, выраженный уравнением Аррениуса, выполняется, получается прямая линия. Действительно,

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E}{RT} = A - \frac{B}{T}$$

в координатах  $\ln k - \frac{1}{T}$  есть уравнение прямой (рис. 2). Тангенс угла наклона прямой  $\text{tg } \phi$  дает значение  $E/R$ , а отрезок, отсекаемый прямой на оси ординат, равен  $\ln k_0$ . Расчет можно произвести и аналитически. Для этого измеряют константу скорости при двух различных температурах  $T_1$  и  $T_2$  и суммируют выражение для  $\ln k$ :

$$\ln k_1 = \ln k_0 - \frac{E}{RT_1}; \quad \ln k_2 = \ln k_0 - \frac{E}{RT_2};$$

$$\ln k_2 - \ln k_1 = \frac{E}{R} \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right);$$

$$E = \frac{R \ln (k_2/k_1)}{1/T_1 - 1/T_2} \quad (42)$$

Обычно пользуются десятичными логарифмами, т. е. употребляют уравнение

$$E = \frac{2,303 R \lg (k_2/k_1)}{1/T_1 - 1/T_2} \quad (43)$$

Энергию активации выражают в Дж/моль. Изучение вопроса о физической природе энергии активации привело к выводу, что ак-



тивными являются не только молекулы, обладающие повышенной скоростью поступательного движения. Активация молекулы может осуществляться в результате перехода атомов, входящих в ее состав, на повышенные колебательные уровни или в результате возбуждения электронов. В соответствии с этим и факторы, способствующие появлению активных молекул, различны по своей природе. Наиболее часто причиной активации следует считать столкновение молекул.

В некоторых реакциях причиной активации является поглощение электромагнитных колебаний, в частности, видимого света. Электрический разряд, воздействие ультразвуком, разрывы валентных связей также могут вызывать активацию.

Энергия активации зависит от температуры.

Активационные барьеры ограничивают возможности развития реакций. При решении практических задач часто стремятся повысить энергию активации одного процесса и понизить энергию активации другого, так как это позволяет управлять ходом сложного химического превращения. Снижение энергии активации, вызываемое катализаторами, в большинстве случаев наиболее характерный признак каталитической активности. В природе биокатализаторы, т. е. ферменты, снижают энергию активации иногда на целый порядок (такова, например, каталаза, разлагающая пероксид водорода).

Таким образом, лекарственные вещества, полностью и избирательно ингибирующие активность отдельных ферментов, могут значительно повышать энергию активации.

Согласованное действие ферментов и их высокая специфичность делают ферментные системы одним из наиболее совершенных средств для целенаправленного управления множеством реакций в организмах.

## § 7. Сопряженные реакции

Сопряженные реакции, изученные в начале этого столетия главным образом Н. А. Шиловым, представляют собой такую совокупность процессов, в которой течение одного зависит от одновременного протекания другого. В этих реакциях образуется общий промежуточный продукт, связывающий оба процесса. Природа его исследована далеко не во всех случаях.

Сопряженные реакции играют исключительную роль в биологических системах. Энергия, полученная в результате окисления веществ пищи, аккумулируется в азотифосфатных соединениях (АДФ и др.); затем эти вещества, вступая во всевозможные сопря-

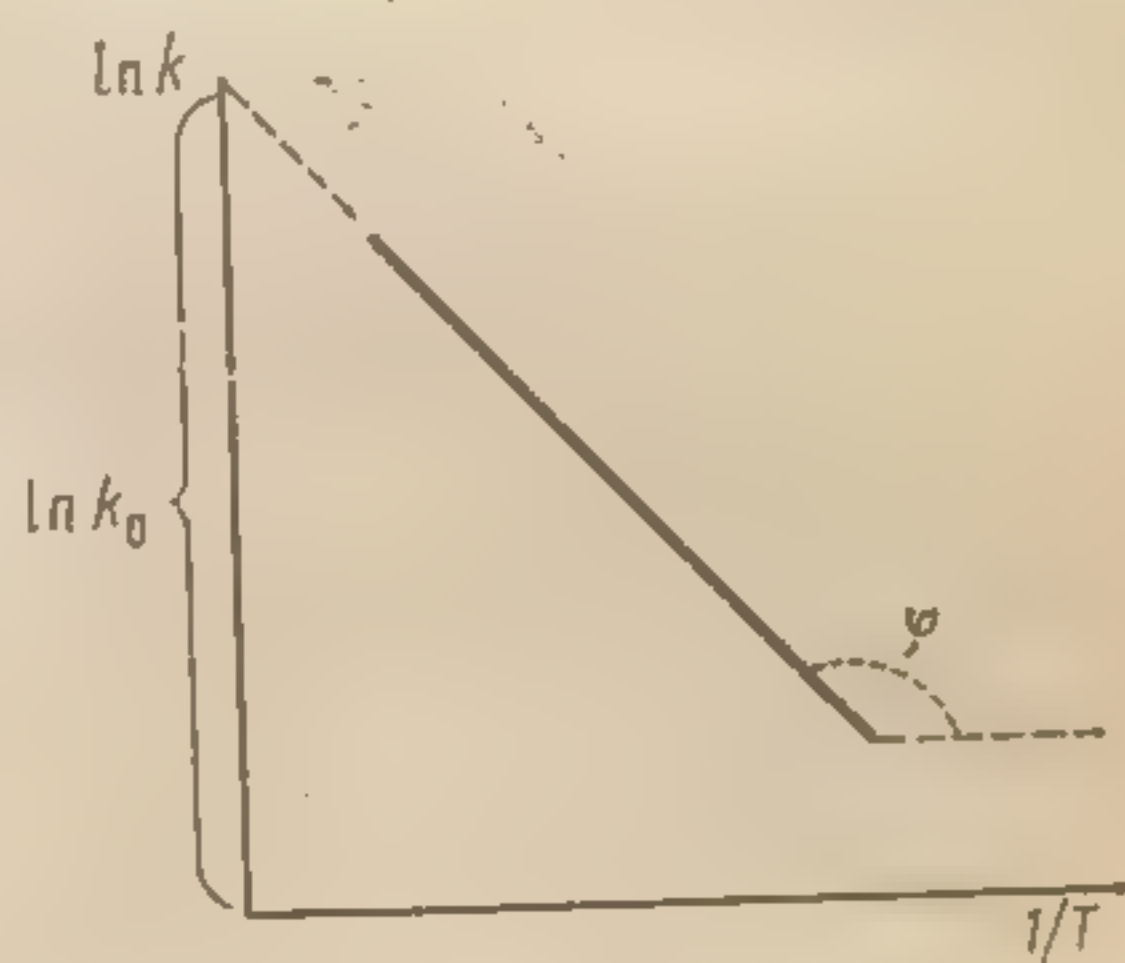


Рис. 2. График зависимости  $\ln k$  от  $1/T$



женные реакции, доставляют энергию, нужную для синтезов сложных веществ, в частности, белков.

Сопряжение биохимических реакций необходимо учитывать при изучении механизмов действия лекарств. Так, например, алкалоид гармалин, ингибируя активность  $\text{Na}^+$ -,  $\text{K}^+$ -АТФазы, уменьшает транспорт сахаров и аминокислот в эпителиальных клетках кишечника, который сопряжен с активным транспортом  $\text{Na}^+$  и не влияет на транспорт, не зависящий от переноса  $\text{Na}^+$ .

### § 8. Особенности кинетики реакций в гетерогенных системах

В гетерогенных системах приходится принимать во внимание два новых фактора: диффузию веществ и зону реакции и процесс удаления из нее продуктов реакции. Даже такой, кажущийся простым процесс, как растворение твердого тела в жидкости, определяется во многих случаях диффузией. Если жидкость находится в покое, то на поверхности растворяющегося тела (кристаллы соли) возникает тонкий слой насыщенного раствора, и по мере того, как вещество из этого слоя диффундирует в жидкость, твердое тело растворяется.

Энергичное перемещение жидкости устраняет диффузионный эффект. Поэтому, если надо исследовать скорость реакции между твердым телом и жидкостью, следует позаботиться об энергичном перемешивании жидкости, — как обычно говорят, «попасть в кинетическую область из диффузионной». По этой же причине реакции поглощения жидкостями газов необходимо проводить при сильном взбалтывании жидкости — настолько сильном, чтобы скорость диффузии газа в слой жидкости совершалась быстрее, чем реакция между газом и жидкостью.

С другой стороны, в гетерогенных реакциях процесс может затормозиться из-за недостаточно быстрого удаления продуктов реакции.

Допустим теперь, что и доставка веществ на поверхность, где идет реакция, и удаление продуктов происходит с надлежащей скоростью. Отчего в таком случае зависит скорость реакции? Нельзя дать однозначного ответа на этот вопрос, потому что различные поверхности проявляют индивидуальные каталитические свойства, но несомненно, что при прочих равных условиях решающую роль играют концентрации реагентов. Возможны случаи, когда одно вещество находится на поверхности в адсорбированном состоянии, а другое реагирует с ним, находясь, например, в газообразном состоянии. Но наиболее общим случаем будет такой, когда оба вещества адсорбированы на поверхности какого-то третьего тела (адсорбента). Как же учесть фактические концентрации веществ на поверхности адсорбента?

И. Ленгмюр решил эту задачу, исходя из упрощающих предположений, что поверхность адсорбента однородна и адсорбирую-



щиеся молекулы образуют на ней слой толщиной не более чем в одну молекулу.

Согласно Ленгмюру, доля поверхности  $\theta$ , занятая молекулами адсорбированного вещества,

$$\theta = \frac{k_1 p}{k_2 + k_1 p}, \text{ или } \theta = \frac{b p}{1 + b p}, \quad (44)$$

где  $b = k_1/k_2$  — адсорбционный коэффициент;  $p$  — давление адсорбируемого вещества.

Уравнение Ленгмюра нашло, несмотря на его явно приближенный характер, широкое применение (Брунауэр, Эммет и Теллер приняли во внимание и возможность адсорбции молекул в несколько слоев — полимолекулярную адсорбцию. Полученное ими уравнение значительно сложнее, чем уравнение Ленгмюра).

Теория Ленгмюра часто применяется при описании взаимодействия фармакологических веществ с биомакромолекулами.

При отсутствии взаимодействия между сорбируемыми молекулами лекарства и при условии мономолекулярной сорбции лекарства с сорбентом, согласно теории Ленгмюра, скорость адсорбции  $v_{\text{адс}} = k_1 a_o (P_n - a_f)$ , а скорость десорбции  $v_{\text{дес}} = k_2 a_f$ , где  $a_o$  — активность лекарства в растворе;  $a_f$  — активность сорбированного лекарства;  $P_n$  — максимальная концентрация сорбированного лекарства, предел адсорбции.

При равновесии  $v_{\text{адс}} = v_{\text{дес}}$   $a_f = \frac{P_n a_o}{k_2/k_1 + a_o}$ , или  $a_f = \frac{P_n a_o}{K + a_o}$ .

Приняв, что активность лекарства в разведенных растворах и на сорбенте приблизительно равны концентрациям, активности и в уравнении изотермы Ленгмюра можно заменить концентрациями  $a_o = C_s$ :

$$a_f = C'_c, \text{ и } C'_c = \frac{P_n C_s}{K + C_s}.$$

После преобразования этой формулы  $\frac{C_s}{C'_c} = \frac{K}{P_n} + \frac{C_s}{P_n}$  можно приближенно найти значения  $K$  и  $P_n$  из графика зависимости  $C_s/C'_c$  от  $C_s$ , в котором тангенс угла наклона прямой и абсциссе равен  $1/P_n$ , а начальная ордината  $K/P_n$ .

Удачной иллюстрацией практического приложения теории Ленгмюра является расчет параметров связывания стероидных гормонов с внутриклеточными компонентами тканей-мишеней. Этот методический подход во многом способствовал открытию специфических рецепторов стероидных гормонов. Так, в середине 60-х годов, независимо в нескольких лабораториях, было описано взаимодействие различных клеточных фракций из органов-мишеней с мечеными по тритию стероидными гормонами. В результате подобных экспериментов было установлено, что в цитоплазме гормонов чувствительных клеток содержатся белковые молекулы, проявляющие высокое сродство и ограниченную емкость по отношению к стероидам. Основанием для этого заключения как раз и послужили рассчитанные по уравнению Ленгмюра константы связывания гормонов с внутриклеточными компонентами ткани-мишени и соответствующее число гормонсвязывающих



участков. Оказалось, что константа равновесия, отвечающая взаимодействию стероидных гормонов и специфических белковых рецепторов из клеток-мишеней, составляет величину не менее  $10^9 \text{ M}^{-1}$ . Такое значение на несколько порядков выше, чем константы связывания стероидов с плазменными белками-переносчиками в кровеносном русле, и есть показатель прочного присоединения гормона к белку. Этот факт позволил объяснить быстрое и эффективное накопление стероидов в некоторых компетентных органах, называемых мишенями для данных гормонов. В дальнейшем такое экспериментальное направление получило широкое распространение не только в эндокринологических опытах, но и в целом, при изучении молекулярных механизмов действия биологически активных веществ и фармакологических препаратов.

## § 9. Теория переходного состояния

Цель, которую ставили перед собой исследователи, создавшие эту теорию (Эйринг, Винн-Джонс, Ледлер, Поляни), заключалась в разработке способа, позволяющего вычислять абсолютную скорость реакции из данных, характеризующих молекулы или атомы реагирующих веществ.

Поэтому теорию переходного состояния или переходного комплекса часто называют *теорией абсолютных скоростей*. Цель была достигнута не полностью — пришлось сделать ряд произвольных допущений. Теория приобрела полуэмпирический характер, но тем не менее основные ее идеи оказались очень плодотворными и стимулировали развитие современной кинетики.

Теория постулирует, что реагирующие молекулы сначала образуют переходный «активированный комплекс», находящийся в равновесии с исходными веществами. Затем этот комплекс превращается в конечные продукты, причем скорость реакции определяется именно скоростью разложения переходного комплекса  $X$ :  $A + B \rightarrow [X] \rightarrow C + D$ , где  $X$  — переходный комплекс, часто обозначаемый звездочкой:  $[X] = [AB]^*$ .

Комплекс сходен с обычной молекулой, отличие состоит в том, что он непрерывно изменяется, приближаясь к конфигурации конечных продуктов. Эйринг показал, что между константой скорости реакции и константой равновесия комплекса существует соотношение

$$k = \frac{RT}{Nh} K^* \kappa,$$

где  $h$  — постоянная Планка;  $N$  — постоянная Авогадро;  $\kappa$  — трансмиссионный коэффициент.

Применяя к константе  $K^*$  обычные термодинамические правила, получим зависимость

$$\ln K^* = -\frac{\Delta G^*}{RT} = -\frac{\Delta H^* - T\Delta S}{RT}.$$

Сравнивая эти два уравнения, найдем основное уравнение теории абсолютных скоростей

$$\ln k = \ln \left( \frac{RT\kappa}{Nh} \right) + \frac{\Delta S^*}{R} - \frac{\Delta H^*}{RT}. \quad (45)$$



Все величины, отмеченные звездочкой, относятся к переходному комплексу.

Величина  $\Delta H^*$  определяется из найденной опытным путем энергии активации  $E$ : для реакций первого порядка  $\Delta H^* = E - RT$ ; для реакции второго порядка  $\Delta H^* = E - 2RT$ .

Теоретическое вычисление  $\Delta S^*$  представляет большие трудности, но общий вид зависимости скорости от  $\Delta S^*$  и  $\Delta H^*$  ясен. Реакция будет протекать тем быстрее, чем больше фактор  $e^{\Delta S^*/R}$ , т. е. чем больше энтропия активации. Большое значение  $\Delta S^*$  означает, что переходное состояние мало упорядочено, переходный комплекс обладает «рыхлой» структурой. Возможно, что реакция будет протекать быстро, несмотря на большую энергию активации (такой случай усматривали в процессе денатурации белков, протекающем быстро, хотя энергия активации значительна).

При небольшом изменении энтропии скорость определяется другим конкурирующим фактором, именно  $\Delta H^*$ . Здесь возрастание  $\Delta H^*$  соответствует уменьшению скорости.

## § 10. Катализ

Катализатором называется вещество, которое, влияя на скорость реакции, выходит из реакции, имея тот же состав, что и в начале. Катализатор только ускоряет наступление равновесия, но не смещает его, и поэтому в присутствии катализатора нельзя получить в равновесной смеси больше продуктов реакции, чем без него. Катализатор ускоряет в равной мере и прямую и обратную реакции и не влияет на величину изменения изобарного потенциала. Уже из соотношения  $-\Delta G^0 = RT \ln K$  следует, что катализатор не изменяет константы равновесия. С практической точки зрения часто бывает необходимо добиться быстрого установления равновесия при невысоких температурах, так как именно в этих условиях выход продуктов реакции значителен, т. е. константа равновесия имеет большую величину. Катализатор и дает в этих случаях возможность быстро получить надлежащий выход продуктов реакции. Введение катализатора позволяет быстро достигнуть равновесия при пониженных температурах, т. е. в более выгодных для практики условиях.

В каталитических реакциях катализатор так или иначе реагирует с исходным веществом, образуя промежуточные продукты. Эти продукты неустойчивы и распадаются на конечные вещества и катализатор.

Природа промежуточных продуктов чрезвычайно разнообразна. Иногда это вещества определенного состава, которые можно выделить и индивидуализировать, иногда это лабильные молекулы или радикалы, существующие лишь очень короткое время и требующие разработки специальных приемов для их выделения и исследования.

В общем случае катализатор ведет реакцию по иному пути, чем тот, который отвечает реакции без катализатора. Путь каталитического процесса соответствует большей скорости. Причины ускоре-



ния не всегда одинаковы. С точки зрения теории активного комплекса реакция, идущая с катализатором, может отличаться от некатализованной реакции в двух отношениях. Напишем выражение для константы скорости реакции

$$k' = \kappa \frac{kT}{h} e^{\frac{\Delta S^*}{R}} e^{\frac{\Delta H^*}{RT}}.$$

Ясно, что константа скорости может быть увеличена, во-первых, за счет снижения  $\Delta H^*$  (практически эта величина близка к энергии активации), а во-вторых, за счет повышения  $\Delta S^*$ . Последнее означает, что переходный комплекс в катализированной реакции более «рыхлый» — расположение атомов в ней более беспорядочно, чем в комплексе некатализованной реакции. Оба фактора могут проявляться в той или иной степени. Чаще обнаруживается действие, обусловленное снижением энергии активации, но и изменение энтропии активации иногда играет важную роль.

В биохимических системах ускорение реакций вызывается иногда за счет одновременного изменения энергетического ( $E$ ) и энтропийного факторов, а иногда только за счет энтропийного.

Важным свойством катализаторов является избирательность действия. Катализаторы обычно ускоряют особенно интенсивно одну какую-либо реакцию или группу реакций определенного типа. Особенно резко выражена избирательность у биологических катализаторов-ферментов, которые действуют на очень узкий круг реакций. Избирательность (селективность) технических катализаторов выражена менее резко, и повышение избирательности составляет предмет постоянных исследований в области технического катализа.

Промежуточные вещества, образующиеся в процессе катализа, могут находиться в равновесии с исходными; часто равновесие не наступает и устанавливается лишь стационарное состояние, при котором скорость образования промежуточных продуктов равна скорости их разложения.

Обозначим исходное вещество  $A$ , катализатор  $K$ , продукт реакции  $P$ , а промежуточный продукт  $M$ . Тогда схему реакции без катализатора следует записать так:

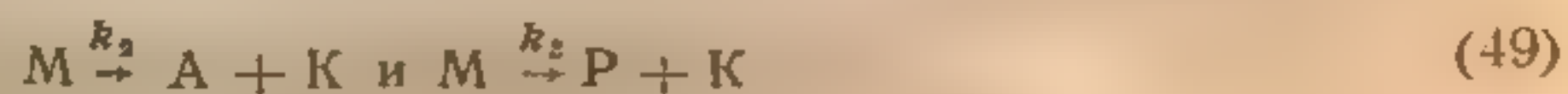


а с катализатором



где  $k_3$  — константа скорости распада промежуточного продукта.

Реакцию (48) будем считать практически необратимой. Вещество  $M$  образуется за счет лишь одной реакции (прямая реакция  $A + K$ ), а распадается за счет двух процессов:





В развитии реакции наступает момент, когда скорость образования промежуточного вещества делается равной скорости его распада (стационарное состояние). В этом случае можно написать:

$$k_1 C_A (C_K - C_M) = k_2 C_M + k_3 C_M = C_M (k_2 + k_3);$$

$$k_1 C_A C_K - k_1 C_A C_M - C_M (k_2 + k_3) = 0; \quad (50)$$

$$C_M = \frac{k_1 C_A C_K}{k_1 C_A + k_2 + k_3}. \quad (51)$$

Предполагается, что концентрация исходного вещества велика по сравнению с концентрацией катализатора; концентрация промежуточного продукта, напротив, сравнима с концентрацией катализатора. Поэтому из концентрации катализатора вычитают концентрацию промежуточного продукта. Напишем выражение для  $C_M$  в виде

$$C_M = \frac{C_A C_K}{C_A + [(k_2 + k_3)/k_1]}. \quad (52)$$

Приняв во внимание, что скорость реакции пропорциональна именно концентрации промежуточного продукта, получим

$$v = k_3 \frac{C_A C_K}{C_A + \frac{k_2 + k_3}{k_1}} = k_3 \frac{C_A C_K}{C_A + K_m}, \quad (53)$$

где  $K_m$  — так называемая константа Михаэлиса. Уравнение (53) показывает, что если скорость распада продукта  $M$  мала и в выражении  $(k_2 + k_3)/k_1$  константа  $k_3$  может быть опущена, то между промежуточным веществом и исходным устанавливается равновесие. Тогда можно написать

$$v \cong k_3 \frac{C_A C_K}{C_A + \frac{k_2}{k_1}}, \quad (54)$$

где  $k_2/k_1 = k_3$  — константа диссоциации комплекса фермент — субстрат, или субстратная константа.

Порядок по отношению к субстрату может изменяться от 0 до 1 в зависимости от величины константы равновесия. Е. И. Шпитальский (1925—1926) исследовал зависимость скорости реакции от концентрации субстрата для различных реакций и теоретически показал, что кривые зависимости  $v$  от  $C_A$  могут сильно отличаться друг от друга и даже могут проходить через максимум по мере увеличения концентрации субстрата.

Л. Михаэлис, изучавший биологические катализаторы-ферменты, считал, что фермент и вещество, на которое он действует (субстрат), образуют равновесный промежуточный продукт, т. е. что  $k_3$  мала настолько, что в знаменателе ее можно отбросить. Тогда  $K_m \cong K_s$ . Максимальная скорость достигается тогда, когда концентрация субстрата безгранично растет:  $C_A \rightarrow \infty$ .



$$v = k_3 \frac{C_K}{1 + \frac{K_m}{C_A}}; v \rightarrow v_{\max} = k_3 C_K.$$

Выражая скорость через максимальную, находим  $v = \frac{v_{\max}}{1 + (K_m/C_A)}$  и при  $C_A = K_m$

$$v = v_{\max}/2. \quad (55)$$

Следовательно, константу Михаэлиса можно найти, если известна та концентрация субстрата ( $C_A$ ), при которой наблюдаемая скорость равна половине максимальной скорости, соответствующей предельной, достигаемой при больших концентрациях субстрата.

Теория Михаэлиса дает возможность описать характер влияния фармакологических веществ на активность ферментов. Построение графиков Лайнуивера—Бэрка ( $1/v - 1/C$ ) позволяет дифференцировать различные механизмы ингибирования.

Кинетический анализ сам по себе не может служить единственным критерием для выбора той или иной схемы процесса. В каждом отдельном случае идентификация промежуточных продуктов должна быть произведена независимыми методами.

Однако иногда наблюдаются процессы, в которых нельзя обнаружить промежуточные продукты, обладающие свойствами определенных химических индивидуумов. В этих случаях можно говорить только о некотором переходном состоянии, кинетические и термодинамические характеристики которого зависят от особенностей реакции.

Катализаторами могут также служить амины и аминокислоты (Е. А. Шилов и сотр.). Ионы металлов функционируют в качестве катализаторов по различным механизмам. Простейший из них заключается в том, что ион металла периодически изменяет валентность и таким образом катализирует окислительно-восстановительный процесс.

Другим путем, по которому может осуществляться катализ ионами металлов, является цепной радикальный механизм. Ионы металлов могут инициировать реакцию, порождая радикалы и давая начало цепной реакции. Наконец, ионы металлов образуют комплексные соединения, часть из которых действует как самостоятельный катализатор, обладающий исключительно высокой активностью.

В природе катализаторы, являющиеся комплексными соединениями, выполняют самые ответственные функции. Комплексное соединение кобальта — витамин  $B_{12}$  — необходимо для процессов кроветворения, металлопорфирины железа входят в состав гемоглобина, ферментов каталазы, пероксидазы и др. Каталитические функции комплексов различных металлов представляют большой интерес. Высокой каталитической активностью, величина которой зависит от природы лиганда, обладают аминные комплексы меди, кобальта, железа и других металлов.

Вещества, повышающие активность катализатора, называются



активаторами. Вещества, подавляющие активность катализатора, называются каталитическими ядами.

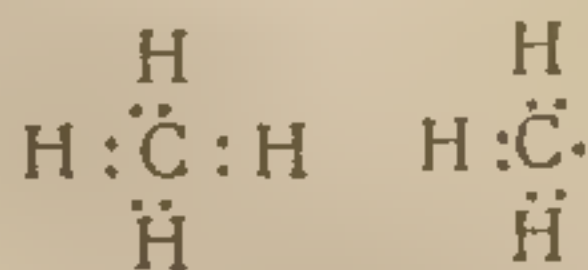
В биокатализе также очень важна проблема активации и инактивации катализаторов, в первую очередь ферментов, в качестве предпосылки для регуляции функций ферментов эндогенными биорегуляторами. Так, уже упомянутый гормон тироксин является естественным активатором фермента глицерофосфатдегидрогеназы, принимающего участие в переносе восстановительных эквивалентов через мембраны митохондрий. Активность сукциноксидазы также повышается при действии гормона, в то время как фермент малатдегидрогеназа ингибируется тироксином. Ингибирование ферментов может быть конкурентным (например, инактивация сукцинатдегидрогеназы дикарбоновыми кислотами типа малоната), когда ингибитор «похож» на субстрат, и неконкурентным, при котором связывание инактиватора и субстрата происходит на разных участках фермента, но взаимодействие ингибитора с определенными образованиями, «интактность» которых необходима для высокой каталитической активности ферментов, вызывает потерю активности всего фермента. Примером этому может быть инактивирующее действие ионов ртути, блокирующих SH-группы цистеина, входящего в молекулу ферментов, что приводит к изменению конформации последних и инактивации. Таким образом, изменение каталитических свойств различных ферментов, по всей видимости, основной способ регуляции их работы в организме эндогенными веществами.

### ГЛАВА 3

#### СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ

##### § 1. Свободные радикалы и цепные реакции

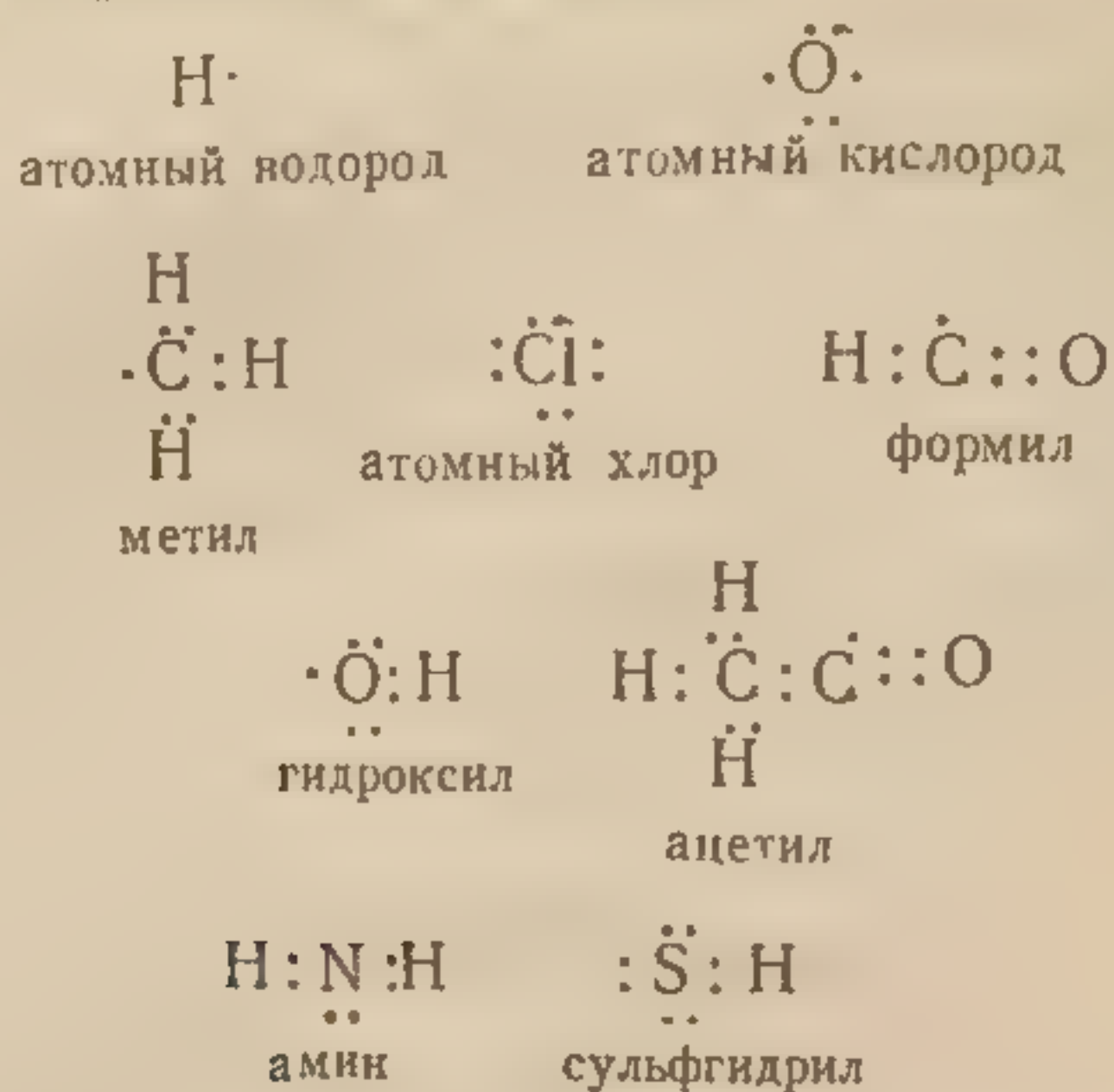
Радикалы в современной науке определяют как нестойкие активные частицы, содержащие неспаренные электроны и полученные из молекул отщеплением от них атомов или групп атомов. При возникновении химической связи электроны соединяющихся атомов образуют общие пары. Так, в метане атом углерода связан с атомами водорода четырьмя парами электронов. Если от метана отнять один атом водорода, то получается метил  $\text{CH}_3$ , в котором один электрон не имеет пары:



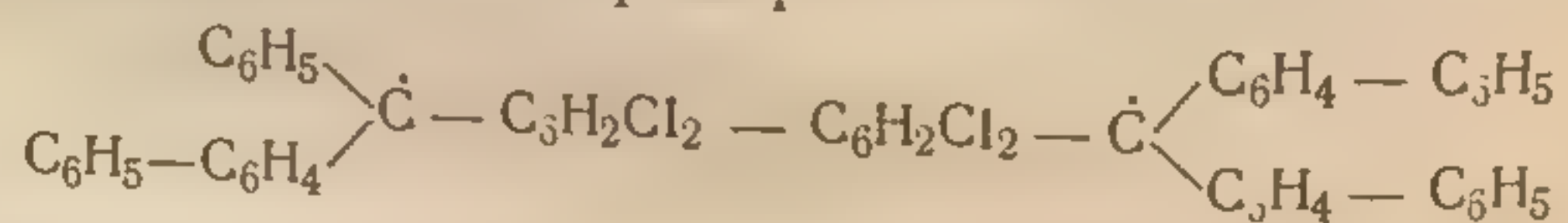
Наличие неспаренного электрона обуславливает высокую химическую активность радикала  $\text{CH}_3$ ; вступая в химические реакции, радикал стремится приобрести недостающий электрон. В частности, два таких радикала легко соединяются друг с другом, образуя



этан (как это и было замечено Шорлеммером). Запишем схематически электронные формулы некоторых свободных радикалов:



Все эти радикалы имеют неспаренные электроны, которые отмечены точкой; сокращенно радикалы часто обозначаются химическими символами с точкой OH, CH<sub>3</sub>, Cl, H<sub>2</sub> и т. д. Радикалы могут иметь и два неспаренных электрона. Если неспаренные электроны находятся в таком положении, что не в состоянии образовать пару, то получается бирадикал, например:



Здесь неспаренные электроны у атомов C разделены двумя бензольными ядрами.

Радикал может иметь и избыточный электрический заряд, в этом случае его называют ион-радикалом. Устойчивость радикала зависит от его природы: в то время как продолжительность жизни радикалов типа метила измеряется сотыми долями секунды, радикал типа трифенилметила может быть получен в относительно чистом виде; он сохраняется неопределенно долго. По-видимому, это связано с тем, что в таких радикалах электроны, в том числе одиночный, «делокализованы», т. е. имеют возможность перемещаться в пределах молекулы.

Обобществление определенных электронов (π-электронов) повышает устойчивость молекулы; как известно, такое обобществление наблюдается в бензольном цикле, отличающемся исключительной прочностью. В метиле движение электронов ограничено, поэтому химическая активность одиночного электрона проявляется в полной мере. Если процессы рекомбинации (т. е. соединения двух радикалов друг с другом) или взаимодействие с другими частицами протекают быстро, то средняя продолжительность жизни радикалов небольшая.

Энергия активации радикальных реакций фактически равна нулю, поэтому эти реакции развиваются быстро. Свободные радикалы можно получить воздействием на вещество потока электронов, α-частиц, облучением γ-лучами или действием света. Реакции, вы-



зываемые действием света, т. е. фотохимические процессы, часто способствуют образованию свободных радикалов.

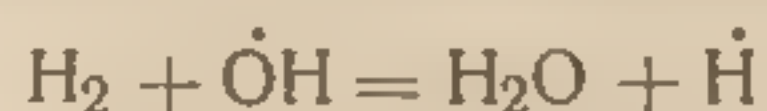
Химические реакции, связанные с изменением валентности иона металла, служат источником получения свободных радикалов. Например, при разложении пероксида водорода в растворе солей железа идет реакция



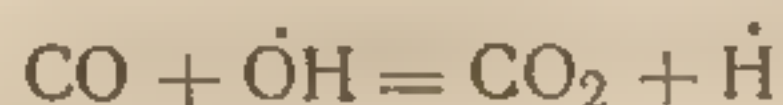
Аналогично действуют и соли меди.

Для исследования радикалов применяют спектральные (в частности ЭПР), магнитные, калориметрические и другие методы.

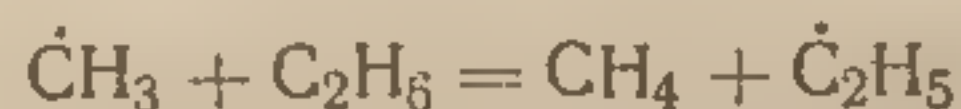
Рассмотрим теперь важнейшие химические реакции, протекающие с участием свободных радикалов. Важность и разнообразие этих реакций обусловлены тем, что свободные радикалы не только обладают высокой химической активностью, но, взаимодействуя с молекулами, могут превращать их также в свободные радикалы. Так, радикал  $\dot{\text{O}}\text{H}$  реагирует с молекулярным водородом по схеме



т. е. вместо радикала  $\dot{\text{O}}\text{H}$  появляется атом-радикал  $\dot{\text{H}}$  и образуется вода. С оксидом углерода радикал  $\dot{\text{O}}\text{H}$  дает  $\text{CO}_2$  и атом водорода:



Углеводородные радикалы с молекулами углеводородов дают другие радикалы, например:

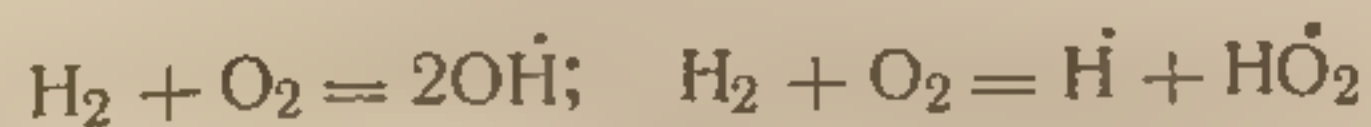


Свободные атомы водорода (и других элементов) иногда присоединяются к насыщенным молекулам, образуя новые, так называемые «комплексные» радикалы. Так, доказано существование комплексов  $\dot{\text{C}}\text{H}_5$ ,  $\dot{\text{N}}\text{O}_3$ , хорошо изучен радикал  $\text{HO}_2$  и т. п.

Основы теории радикально-цепных реакций заложены в работах акад. Н. Н. Семенова и его школы, а также Гиншельвуда, Христиансена, Боденштейна и др.

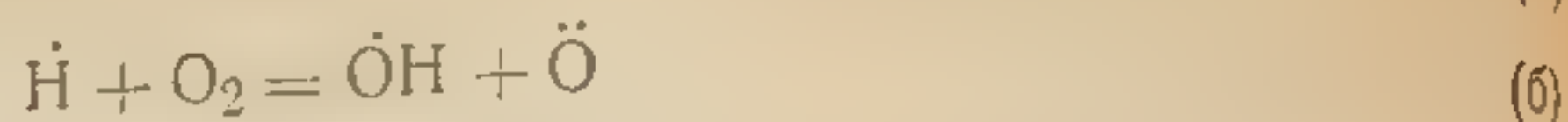
Цепной реакцией называют процесс, протекающий с участием свободных радикалов, в котором повторяются стадии превращения исходных веществ в конечные, причем в реакции продолжения цепи сохраняется свободная валентность.

Реакция горения смеси водорода и кислорода является примером реакции развития и разветвления цепей с участием радикалов. Теория реакций такого типа была разработана Н. Н. Семеновым. Зарождение цепей происходит в результате прямого взаимодействия молекул  $\text{H}_2$  и  $\text{O}_2$ , приводящего к образованию радикалов  $\dot{\text{O}}\text{H}$ ,  $\dot{\text{H}}$  и  $\text{HO}_2$ :



Эти реакции идут медленно и, по выражению Н. Н. Семенова, имеют значение лишь «спускового механизма». Затем развиваются процессы с участием радикалов:

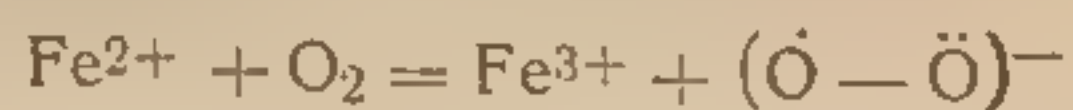




Появление атома  $\ddot{\text{O}}$  в реакции (б) дает начало новой цепи; цепь, таким образом, разветвляется, и в реакцию быстро вовлекаются все новые и новые количества водорода и кислорода. Наиболее медленной является реакция (б), поэтому она и определяет скорость всего процесса в целом. Реакции (а) и (в) протекают чрезвычайно быстро. Если радикалы  $\text{H}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{O}$  адсорбируются на стенках реакционного сосуда, то они легко соединяются с другими такими же радикалами, приближающимися к стенке из объема сосуда, и цепной процесс прекращается (обрыв цепи).

## § 2. Свойства свободных радикалов

Свободные радикалы участвуют в процессах окисления различных веществ. Наличие в радикалах одиночных электронов обуславливает тенденцию присоединять электрон. Поэтому радикалы часто играют роль окислителей. Они могут также присоединять атом водорода, т. е. выполнять функцию дегидрирования. В теории окисления Баха — Энглера придается важное значение образованию пероксидов в результате присоединения молекулы кислорода к окисляемому веществу. Молекула кислорода сама по себе довольно инертна, но, взаимодействуя с радикалами, она дает активные радикалы, начинающие цепную реакцию. Молекула кислорода активизируется и при взаимодействии с ионом железа:



Получается радикал, обладающий избыточным зарядом, — ион-радикал  $(\dot{\text{O}} - \ddot{\text{O}})^-$ . Он энергично реагирует с органическими молекулами, отрывая водород или присоединяясь к ненасыщенным связям. Поэтому ионы железа катализируют цепные реакции окисления молекулярным кислородом.

Радикалы начинают цепные реакции, характерной чертой которых служит возникновение нового радикала вместо радикала, вошедшего в реакцию.

Свободные радикалы вступают в реакции с большим числом биологически важных веществ и вносят дезорганизацию в биохимические системы. В итоге постепенно обнаруживаются признаки более или менее тяжелых поражений всего организма. Особенно сильно при этом страдает кроветворная система, желудочно-кишечный тракт, кожные покровы, резко снижается способность организма сопротивляться действию инфекций. Поражение желез эндокринной системы и, в частности, половых вызывает увеличение числа возможных мутаций. Это приводит к тому, что не только



организм, подвергшийся облучению, но и его потомки могут длительно страдать от различных специфических заболеваний (лейкемии, злокачественные опухоли и др.).

Некоторые вещества, особенно производные цистеина, способные прочно связывать радикалы и тормозить развитие цепных реакций, могут служить при введении их в организм защитой от лучевых поражений и на их основе разрабатываются соответствующие лечебные средства.

Одним из важнейших компонентов живой клетки, вовлекаемых в свободно радикальные реакции, являются липиды. Перекисное окисление ненасыщенных жирных кислот приводит к деструктивным нарушениям клеточных мембран и мембран органелл, нарушениям ионного транспорта, активности мембраносвязанных ферментов. По современным представлениям процесс перекисного окисления липидов представляет собой ведущий патогенетический фактор в развитии лучевого поражения, опухолевом перерождении клеток, приводит к старению организма. Перекисное окисление протекает и в норме, у здорового человека, и такая «нормальная» его скорость определяется наличием эндогенных ингибиторов процесса окисления липидов, механизм действия которых также связан с непосредственным взаимодействием со свободными радикалами (эти вещества получили даже специальное название «истинные антиоксиданты»). Еще сравнительно недавно основным ингибитором окисления считался витамин Е ( $\alpha$ -токоферол), который, отдавая электрон и протон свободному радикалу, инактивирует его и препятствует тем самым развитию реакции окисления. Большой интерес вызывает обнаружение антирадикальных свойств и у других эндогенных веществ, в первую очередь, стероидных гормонов и тиреодного гормона тироксина. Как показано в многочисленных работах П. В. Сергеева и сотр. и в других лабораториях, гормоны — весьма активные антиоксиданты, влияющие на развитие реакций окисления, независимо от причины, их вызывающей (инициация ионами двухвалентного железа, УФ облучение, ионизирующая радиация). Такой характер действия свидетельствует об универсальности механизма ингибирования, а важная роль гормонов в общем регуляторном воздействии на биохимические процессы в организме лишь только подчеркивается возможностью регуляции и такого процесса, как перекисное окисление липидов биологических мембран.

Все антиоксиданты можно разделить на две большие группы: 1) синтетические и 2) природные антиоксиданты или биоантиоксиданты.

К синтетическим веществам, обладающим антиокислительными свойствами и применяемым в медицине, относятся производные барбитуровой кислоты, фенотиазин и его производные, аминотиолы и ряд других соединений.

К биоантиоксидантам прежде всего следует отнести витамины группы Е-токоферола. Выраженные антиокислительные свойства присущи также стероидным гормонам (особенно эстрогенам) и



антибиотикам: тетрациклину, левомицитину, пенициллину, ауромину и др. Кроме того, антиокислительным действием обладают биливердин, билирубин, убихинон, витамины группы К и т. д.

В основе механизма действия большинства антиоксидантов лежит реакция взаимодействия молекулы ингибитора с активными радикалами  $R\cdot$ ,  $ROO\cdot$ . По этому механизму наиболее активными ингибиторами перекисления являются фенольные соединения. К последним относится большая группа природных веществ: токоферол, тирозин, эстрогены и др.

Существует и иной механизм действия антиоксидантов, наиболее характерный для соединений из группы диалкилсульфидов. Заключается он во взаимодействии веществ с гидроперекисями  $ROOH$ .

Антиоксиданты способны оказывать влияние на скорость реакций перекисного окисления, блокируя катализаторы свободнорадикальных процессов и прежде всего ионы металлов переменной валентности. Антиокислительное действие лимонной кислоты, ЭДТА, цианистых соединений объясняется уменьшением каталитического влияния ионов металлов.

«Структурными» антиоксидантами, т. е. веществами, у которых антиокислительное действие опосредовано изменением структуры мембран, являются многие андрогены, глюкокортикоиды, прогестерон.

## ГЛАВА 4

### СОСТОЯНИЕ ВЕЩЕСТВА В РАСТВОРЕ

В общем случае растворенное вещество в той или иной мере взаимодействует с растворителем. Иногда это взаимодействие можно обнаружить с трудом, иногда оно настолько сильно, что удается выделить и индивидуализировать определенные соединения — сольваты. Здесь будут рассмотрены только водные растворы, так как их доминирующая роль в биологических системах бесспорна.

Наиболее отчетливо взаимодействие с водой проявляется при растворении в ней электролитов, испытывающих электролитическую диссоциацию. Диссоциация на ионы есть следствие экзоэнергетического процесса гидратации. Ион окружен оболочкой из молекул воды, причем степень гидратации, как правило, больше у катиона. По-видимому, вокруг иона существует ближний порядок, причем молекулы воды, входящие в ближайшее окружение иона, обмениваются с молекулами среды.

Координационное число металла колеблется в пределах от 4 до 8; для иона водорода доказано существование его в форме иона гидроксония  $H_3O^+$ , который в свою очередь связан еще с тремя молекулами воды.



## § 1. Буферные системы

Равновесие в водном растворе, содержащем кислоты, соли и основания, устанавливается быстро; ионные равновесия вообще устанавливаются с большой скоростью. Введение в раствор новых порций кислоты или основания смещает равновесие и приводит к новым значениям концентраций. Этот вопрос приобретает особенно большое значение для ионов водорода. В зависимости от концентрации (точнее активности) ионов водорода метаболические процессы протекают с различной скоростью. Это связано с существованием определенных и довольно узких пределов концентрации ионов  $H^+$ , которые для каждого фермента отвечают его наибольшей активности.

Для обеспечения постоянства активности необходимо поддерживать и концентрацию ионов водорода (т. е. величину  $pH$  — отрицательный логарифм концентрации или активности ионов  $H^+$ ) на одном и том же уровне. Это достигается в природе образованием буферных систем, т. е. смесей слабых кислот и их солей, обладающих таким свойством, что добавление к ним кислоты или основания (или разбавление смеси водой) не сказывается практически на величине  $pH$ .

Напишем для подобной смеси выражение константы равновесия  $K$  диссоциации слабой кислоты:

$$[H^+] = \frac{[HA]}{[A]} K.$$

Концентрация анионов практически равна концентрации соли, которая диссоциирует лучше, чем кислота, поэтому:

$$[H^+] = \frac{[HA]}{[соль]} K.$$

$[HA] \approx [кислота]$ , так как кислота диссоциирует слабо:

$$[H^+] = \frac{[кислота]}{[соль]} K,$$

или  $\lg[H^+] = \lg[кислота]/[соль] + \lg K$ ;

$$pH = \lg [соль]/[кислота] - \lg K.$$

Обозначим  $-\lg K$  через  $pK$ , тогда

$$pH = pK + \lg [соль]/[кислота].$$

Следовательно,  $pH$  раствора зависит от  $pK$  и отношения концентрации соли и кислоты.

Буферная емкость измеряется количеством кислоты, которую надо прибавить к буферу для изменения  $pH$  на единицу. Пусть концентрация кислоты и соли в буферном растворе  $C_k$  и  $C_c$ . Тогда

$$pH = pK + \lg \frac{C_c}{C_k}$$

Число молей сильной кислоты, которую надо прибавить к литру буфера для изменения  $pH$  на единицу, обозначим через  $x$ . После добавления  $x$  молей сильной кислоты концентрация  $C_k$  возрастет, так как практически все ионы  $H^+$  добавленной ки-



слоты с анионами слабой кислоты образовали недиссоциированные молекулы, поэтому  $pH - 1 = pK + \lg \frac{C_c - x}{C_k + x}$ .

Вычитая из этого уравнения предыдущее, находим:

$$-1 = \lg \frac{C_c - x}{C_k + x} + \lg \frac{C_k}{C_c} = \lg \frac{(C_c - x) C_k}{(C_k + x) C_c},$$

или

$$\lg \frac{1}{10} = \lg \frac{(C_c - x) C_k}{(C_k + x) C_c}.$$

Отсюда

$$C_k C_c - x C_c = 10 C_k C_c = 10 x C_k; \quad 10 x C_k - x C_c = 9 C_k C_c;$$

$$x = \frac{9 C_k C_c}{(10 C_k - C_c)}.$$

Разделив числитель и знаменатель на  $C_c$ , видим, что

$$x = \frac{9 C_k}{10(C_k/C_c) - 1},$$

т. е. буферная емкость зависит от  $C_k$  и отношения  $C_k/C_c$ .

## § 2. Структура воды

Ни одно вещество не возбуждало столь глубокий интерес к особенностям своей внутренней структуры, как вода. Это объясняется не только исключительной ролью воды в развитии всех форм жизни на Земле, но и тем удивительным комплексом свойств, которым обладает это соединение. Такие «аномалии» воды, как ее высокая плотность, неожиданный ход плотности с изменением температуры, большая диэлектрическая проницаемость, конденсация при быстром адиабатическом расширении пара и др., постоянно привлекали внимание исследователей, стремившихся связать «аномалии» с характером взаимодействий между полярными молекулами и теми неустойчивыми структурами, которые возникают в жидкости в результате этих взаимодействий.

До сих пор, однако, проблема строения воды остается источником дискуссии, хотя многое в ней и прояснилось за последние годы.

Молекула воды имеет угловое строение: в вершине угла, равного в парах  $104,27^\circ$  (во льду  $109^\circ$ ), находится атом кислорода: на расстоянии  $0,96 \text{ \AA}$  — атомы водорода. Электронные облака ( $s$ -водородных атомов и  $p$ -кислородного атома) перекрываются так, что их оси направлены к углам тетраэдра. К двум другим углам тетраэдра направлены оси облаков  $p$ -электронов кислорода, так что в целом электронная структура молекулы воды тетраэдрическая. Электронные пары, не использованные в связи  $—O—$  с атомами (точнее протонами) водорода, создают существенный избыток электронной плотности в одной части молекулы, другая часть (та, где находятся протоны) имеет избыточный положительный заряд; это обстоятельство наряду с угловой формой молекулы объясняет наличие у воды дипольного момента и, как следствие, сил взаимодействия между молекулами  $H—O—H$ .



Между внешними парами электронов кислорода и протонами соседних молекул воды возникают водородные связи, играющие существенную роль в формировании структуры всей массы жидкости.

Каждая молекула воды может участвовать в образовании четырех таких связей: две из них образуются за счет притяжения двух протонов данной молекулы к электронным парам кислородного атома двух соседних частиц, и две получаются за счет притяжения протонов соседних молекул к электронным парам атома кислорода данной частицы. Таким образом, молекула воды играет роль одновременно и донора, и акцептора протона.

В водяном паре уже заметна тенденция к образованию групп из нескольких молекул воды — при невысоких температурах в паре существуют парные (димерные) частицы воды. В кристаллах льда каждая молекула воды окружена четырьмя другими, так что получается правильная тетраэдрическая структура (гексагональная сингония). Протоны, образующие водородные связи, находятся между атомами кислорода, причем характер их движений таков, что нельзя сказать, к какому атому кислорода принадлежит данный протон. В среднем протон связан одинаково прочно с обоими кислородными атомами. Вероятно (Ю. Е. Пинчуков), водородная связь может находиться и в ионизированном состоянии, когда к одной из связанных молекул приближен протон, а другая почти потеряла его  $\text{HO}^- \dots \text{H}^+ - \text{OH}_2$ . Такому образованию, конечно, свойствен значительный дипольный момент.

Заметим, что тетраэдрическая структура оставляет довольно много «пустот» внутри решетки, которые достаточно велики (О. Я. Самойлов), чтобы вместить молекулу воды. По О. Я. Самойлову, при плавлении льда эти пустоты заполняются, что ведет к повышению плотности жидкой воды по сравнению с твердой (льдом), — так объясняется одна из важных аномалий воды.

### § 3. Изменение структуры воды под влиянием ионов

В общем случае структура жидкой воды нарушается под влиянием даже полярных групп молекул растворенного вещества (Далберг). Неполярные группы, например метиленовые, оказывают обратное действие и, по-видимому, могут упрочнять структуру.

В гораздо большей степени эффекты влияния обнаруживаются в растворах электролитов, в которых сильное электрическое поле иона вносит существенные искажения в льдоподобную структуру воды. В результате притяжения диполей воды к иону плотность системы возрастает (электрострикция) и тетраэдрическое расположение молекул воды сменяется конфигурациями, характерными для совокупности гидратированных ионов.

Конечный результат структурной перестройки зависит от размеров иона. Если ион имеет сравнительно небольшой радиус и может поместиться в центре тетраэдра, образованного молекулами



воды, то структура воды изменяется сравнительно мало, но молекулы, находящиеся по углам тетраэдра, получают дополнительную поляризацию в направлении к центральному иону. Форслинд показал, что тетраэдрические ионы хлорной кислоты (анионы  $\text{ClO}_4^-$ ), близкие по размерам к тетраэдрам воды (равно как и катионы аммония), могут в известной мере имитировать эти тетраэдры и поэтому почти не искажают структуру воды.

Суммируя литературные данные последних лет, можно представить различные типы взаимодействия ионов с тетраэдрической структурой воды в виде табл. 3.

Таблица 3

| Ион   | Характер искажения структуры воды   |
|---|---|
| <p>Катионы: калий, рубидий, аммоний, барий, таллий (I)</p> <p>Анионы кислот: хлорной, серной, ортофосфорной, фтористоводородной</p> <p>Катионы: лития, натрия, гидроксония</p> <p>Анионы: хлора, брома, иода</p> <p>Большие полимерные ионы: анионы органических кислот (карбоксилаты). Сахароза, декстроза</p> | <p>Не вызывают существенного искажения структуры воды, «встраиваясь» в решетку или располагаясь в структурных полостях</p> <p>Разрушают структуру воды в интервале температур от 10 до 50°С</p> <p>Упрочняют структуру воды, увеличивая число водородных связей</p> |

В конце 60-х годов в ряде работ Лященко обосновал взгляд на растворы как на системы, в которых сохраняется тетраэдрическая структура воды даже в тех случаях, когда концентрация электролита велика. Ионы электролита, если это допускают их размеры, встраиваются в решетку, анионы могут частично заменять своими кислородными атомами молекулы воды в тетраэдрах. Так, например, ион сульфата замещает кислородными атомами две молекулы воды в тетраэдре, а два других атома располагаются в полостях; ион карбоната может занять два места в решетке и одно в полости или, соответственно, наоборот.

С помощью физико-химических методов было показано, что биомакромолекулы, являющиеся рецепторными образованиями для лекарственных веществ, окружены слоем «связанной» воды и микроструктура сольватного окружения зависит от конформационного состояния макромолекулы. Не без основания считают, что лекарства могут оказывать действие на структуру рецепторов в результате влияния на взаимоотношение растворителя с макромолекулой. По современным представлениям «связанная» вода имеет большое значение в механизме действия анестетиков. Полагают, что мембранные белки содержат два вида такой воды: 1) сильно структурированная вода, ассоциированная с электростатическими группами белка, и 2) менее структурированная вода, находящаяся в гидрофобных областях белка. Молекула анестетика в растворе также окружена льдоподобной водой, упорядоченность которой



сходна с водой в гидрофобных областях мембраны. После внедрения анестетика в мембрану ее объем увеличивается не столько за счет самих молекул анестетика, сколько за счет увеличения количества структурированной воды в гидрофобных областях белков. Кроме того, как считают, при этом происходит «плавление» сильно структурированной воды, окружающей заряженные группы белка, что приводит к еще большему расширению мембраны, которое обуславливает эффект анестезии.

Об участии воды в механизме действия других лекарств пока мало известно, хотя и имеются предварительные данные о влиянии низкомолекулярных агентов (стероиды, рентгеноконтрастные вещества) на микроструктуру воднобелкового слоя. По-видимому, дальнейшие исследования в этом направлении помогут лучше понять специфику взаимодействия фармакологических препаратов с биоструктурами.

## ГЛАВА 5

### СТРОЕНИЕ И СВОЙСТВА МОЛЕКУЛ

#### § 1. Химическая связь

Химическая связь возникает между двумя атомами, если при их сближении уменьшается полная энергия. Это значит, что система, которая до соединения состояла из двух отдельных атомов, теперь единая частица и оба атома имеют общие электроны. Полная энергия атомов представляет собой главным образом потенциальную энергию взаимодействия электронов и ядер, ядер и ядер, электронов и электронов. Вклад других видов энергии, например вращательной энергии молекулы или поступательной (при обычных температурах), гораздо меньше и составляет величину порядка 0,1%.

#### § 2. Основы методов валентных связей (ВС) и молекулярных орбиталей (МО)

Во всех случаях при образовании молекулы из атомов электроны атомов изменяют состояние своего движения; это изменение особенно значительно у электронов валентных оболочек. Можно составить себе только приближенное представление, как движутся электроны в молекуле — даже для сравнительно простых систем квантовомеханические расчеты крайне сложны и часто практически невыполнимы. Однако несомненно, что распределение плотности электрических зарядов (выражают, указывая плотность электронного заряда) в общем случае неравномерно: одни атомы имеют избыточную электронную плотность, другие — пониженную. В методе ВС указывают различные крайние случаи распределения связывающих электронов.

Метод молекулярных орбиталей (МО) приводит в общем к тем же результатам, что и метод ВС, но имеет значительные преимущества. Основная идея метода МО заключается в том, чтобы рассматривать движение электрона в молекуле подобно тому, как это делается по отношению к электронам в атоме. Поэтому вводятся молекулярные орбитали (т. е. волновые функции электронов в молекуле), квантовые числа, характеризующие состояние электронов в молекуле, и т. д.

В методе МО предполагается, что данный электрон в молекуле движется по многоцентральной орбитали, т. е. в поле нескольких ядер. Строят для этого одного электрона все возможные молекулярные орбитали, затем заполняют их электронами.



Энергия электронов на связывающих орбиталях ниже, чем энергия электронов на исходных атомных орбиталях, а энергия на разрыхляющих — выше. В простейших случаях (при слабом перекрытии) разность между исходным уровнем и связывающей орбиталью равна разности между исходным уровнем и разрыхляющей орбиталью. Электроны прежде всего занимают связывающие орбитали. Появление электронов на разрыхляющих орбиталях означает возникновение сил отталкивания. При выполнении указанного равенства разностей уровней энергии притяжение, обусловленное парой электронов на связывающей орбитали, полностью компенсируется отталкиванием, вызванным наличием пары электронов на разрыхляющей орбитали.

По этой причине взаимодействие тех орбиталей атомов, на которых уже находятся по два электрона, не приводит к связыванию. Если, например, атом гелия, имеющий два электрона на первой оболочке, взаимодействует с другим атомом гелия, то, хотя и возникают две молекулярные орбитали — связывающая и разрыхляющая, на каждой из них окажется по два электрона и в итоге притяжение будет полностью скомпенсировано отталкиванием — молекула  $H_2$  образоваться не сможет.

Следовательно, фактически при взаимодействии атомов все электроны, а не только валентные, изменяют свое состояние, но валентные силы возникают в результате перехода части электронов на пониженные энергетические уровни — связывающие орбитали, нескомпенсированные разрыхляющими орбиталями; последние должны оставаться или полностью, или частично пустыми.

Применение метода МО начинается с того, что отыскивают систему молекулярных уровней, получившихся из атомов путем расщепления. Следующий шаг заключается в размещении электронов по уровням.

Несмотря на разработку мощных приближенных квантовомеханических методов (В. А. Фок, Слейтер) и применение электронных вычислительных машин, вычисление волновых функций молекул остается очень трудной операцией, требующей длительного времени и ряда точных экспериментальных данных.

Наглядное представление о распределении электронного облака в методе МО достигается с помощью схематических рисунков, изображающих условно (точками или контуром) границы областей, в которых плотность заряда велика. В случаях, когда речь идет о несложных молекулах, такие схемы хорошо изображают важнейшую особенность химического связывания — перекрывание электронных облаков.

В зависимости от характера перекрытия электронных облаков получаются химические связи различных типов. Если перекрытие происходит по линии, соединяющей центры атома, то возникает сигма-связь, обозначаемая греческой буквой  $\sigma$ . В образовании этой связи могут принимать участие как  $s$ -, так и  $p$ -электроны. Если же перекрываются облака  $p$ -электронов, оси которых перпендикулярны к линии центров в молекуле, то получают две разделенные друг от друга области; возникает пи-связь ( $\pi$ ). Пи-связи обычно несколько слабее сигма-связей, но зато они могут объединять большое число атомов в общую электронную систему.

### § 3. Гибридизация

При образовании химических связей наибольшее перекрывание орбиталей, т. е. наибольшая прочность связей, часто достигается в результате образования комбинированных (гибридных) орбиталей, представляющих линейное сочетание, например,  $s$ - и  $p$ -орбиталей. Другое важное основание для допущения гибридизации, т. е. смешивания орбиталей, заключается в том, что различие в орбиталях у данного атома иногда не отвечает особенностям образуемых им связей.

Перевод электрона с  $s$ -орбитали на  $p$ -орбиталь сопряжен с затратой работы; атом переходит при этом в возбужденное состояние. Энергетический расход компенсируется энергией, выделяющейся при реакции, а также и увеличением числа связей. Если затрата энергии слишком велика, гибридизация не наблюдается.

Гибридизация электронных орбиталей у соединений, имеющих неподеленные пары электронов (вода, аммиак), требует очень больших затрат энергии. Так, чтобы перевести в атоме азота один  $s$ -электрон на  $p$ -орбиталь, надо затратить



около 200 Дж. Столь большой расход не окупается выигрышем энергии вследствие повышения прочности связей, и в этом случае гибридизация не происходит. Геометрические особенности молекулы существенно зависят от типа гибридизации.

#### § 4. Особенности молекул, содержащих $\sigma$ -связи

Для  $\sigma$ -связей характерно такое расположение перекрывающихся электронных облаков, при котором ось облака совпадает с линией, соединяющей центры атомов.

Пусть имеется молекула  $CR_4$ ; причем все связи в ней строго ковалентны; введем в эту молекулу заместитель  $X$  так, чтобы получилось соединение  $CR_3X$ . Теперь электронная плотность распределена уже иначе: атом углерода или приобрел, или потерял часть заряда электронного облака — стал или положительным, или отрицательным по сравнению с его состоянием в исходной молекуле. Соответственно и атом заместителя также получил какой-то заряд. Условились обозначать этот эффект термином «индуктивность», и знак индуктивности принимать таким, чтобы он совпадал со знаком заряда, возникшего на атоме заместителя.

Индуктивный эффект положителен ( $+I$ ), если  $X^{\delta+} \rightarrow CR_3^{\delta-}$ . Индуктивный эффект отрицателен ( $-I$ ), если  $X^{\delta+} \leftarrow CR_3^{\delta-}$ , где  $\delta$  — избыточный заряд на каждом из атомов. Стрелка показывает направления смещения электронной плотности. Индуктивный эффект не ограничивается одной связью; он распространяется по связям, быстро ослабевая. Индуктивный эффект растет с увеличением заряда, создаваемого заместителем. Энергичное притяжение электронов, характерное для металлоидных атомов, выражается в сильном отрицательном индуктивном эффекте ( $-I$ -эффект); наоборот, отрицательный ион кислорода склонен отдавать электроны и проявляет положительный ( $+I$ -эффект). Ненасыщенные связи  $C=C$  характеризуются отрицательным эффектом, т. е. они притягивают «на связь» электроны; радикалы метил- и  $n$ -алкилы обнаруживают положительный эффект.

Индуктивные эффекты вызывают смещение плотности  $\sigma$ -электронов и позволяют в общих чертах предвидеть, где именно в данной молекуле можно ожидать сосредоточивание отрицательных, а где положительных зарядов. Электронный «остов» молекулы не абсолютно жесткий, и, хотя  $\sigma$ -связи под влиянием различных соседних групп более или менее поляризованы, приближение к данной связи какого-либо постороннего иона или действие внешнего поля могут усилить или ослабить поляризацию. Этот дополнительный эффект называют динамическим эффектом; он, в частности, проявляется в особенно легкой деформируемости связей углерод — иод по сравнению с деформируемостью связей углерод — фтор или хлор.

#### § 5. Сопряженные $\pi$ -электронные системы

$\pi$ -Связи образованы сочетанием  $p$ -орбиталей, у которых оси перпендикулярны оси молекулы. Эта особенность  $\pi$ -связей приводит к значительному перекрыванию электронных облаков по обе стороны линии центров, в то время как на самой линии электронный заряд равен нулю.

Перекрывание орбиталей, относящихся к разным атомам, часто создает условия для образования общего электронного облака, охватывающего несколько ядер. Это явление особенно важно для тех молекул, которые выполняют биологические функции. Даже очень сложные молекулы в результате сопряжения  $\pi$ -электронов действуют как единая электронная система. Одна из причин, по которым атомы углерода, фосфора, азота, серы сыграли столь значительную роль в ходе биохимической эволюции и вошли в состав основных биологических механизмов, заключается в том, что эти атомы способны образовывать сопряженные  $\pi$ -электронные системы.



## § 6. Структурные индексы

При исследовании электронной структуры сложных молекул пользуются особыми структурными индексами. К числу индексов относятся электронный заряд, порядок связи и индекс свободной валентности (Полинг, Коулсон, Пьюлман). По отношению к  $\pi$ -электронным сопряженным системам нельзя просто приписать каждому атому (ядру или иону) определенное число  $\pi$ -электронов, так как  $\pi$ -электроны делокализованы и составляют одно общее облако — коллектив, принадлежащий всем атомам, которые данная орбиталь связывает. Поэтому и приходится вычислять коэффициенты, показывающие долю участия каждого атома во владении этим электронным облаком.

Последовательность рассуждений, ведущих к представлению об электронном заряде, сводится к следующему: вероятность найти электрон в данной единице объема пропорциональна  $\psi^2$ ; эту величину можно рассматривать как «долю» всего заряда электрона, приходящуюся на этот объем. Если принять заряд электрона, равным единице, то для нормированных функций

$$\int \psi^2 dV = 1 \quad (57)$$

при интегрировании по всему объему, т. е. если сложить все «доли» во всех объемах, получим весь заряд. Но если электрон связан с двумя центрами (ядрами), то функцию  $\Psi$  можно приближенно представить в виде суммы:

$$\Psi = c_1\psi_1 + c_2\psi_2, \quad (58)$$

где  $c_1$  и  $c_2$  — коэффициенты;  $\psi_1$  и  $\psi_2$  — функции, описывающие поведение электрона у каждого из центров при условии, что другой центр на электрон практически не влияет. Отсюда следует, что величина  $\int \Psi^2 dV$ , пропорциональная полному заряду, равна

$$\int \Psi^2 dV = \int (c_1\psi_1 + c_2\psi_2)^2 dV = c_1^2 \int \psi_1^2 dV + 2c_1c_2 \int \psi_1\psi_2 dV + c_2^2 \int \psi_2^2 dV. \quad (59)$$

Но  $\int \psi_1\psi_2 dV = 0$ , так как функции  $\psi_1$  и  $\psi_2$  взаимно ортогональны, ■  $\int \psi_1^2 dV = 1$  ■  $\int \psi_2^2 dV = 1$ . Поэтому полный заряд делится на части, равные  $c_1^2$  и  $c_2^2$ . Следовательно, квадраты коэффициентов  $c_1^2, c_2^2, c_3^2, \dots, c_i^2$  выражают электронные заряды или доли электрона, приходящиеся на данный атом ■ молекуле. У сложных молекул равенство  $\int \psi_1\psi_2 dV = 0$  можно принять только ■ качестве приближения, тем не менее этот прием во многих случаях вполне допустим (метод Хюккеля), и поэтому ■ общей форме можно записать для данной МО:

$$\psi_i = \sum c_{ri}\psi_r, \quad (60)$$

т. е. выразить волновую функцию в виде суммы атомных орбиталей. Другими словами, полный электронный заряд на орбитали  $\Psi_i$  можно приближенно разделить на части, отвечающие ядрам атомов, и каждая часть будет равна  $c_{ri}^2$  ( $r$  — номер ядра). Эта операция проводится по отношению ко всем орбиталам, и тогда для полного  $\pi$ -электронного заряда получаем

$$Q = 2 \sum_r \sum_i c_{ri}^2 \quad (61)$$

(на орбиталях находится два электрона) и для  $\pi$ -электронного заряда  $Q$  на атоме  $r$  найдем

$$Q = \sum q_r; \quad q_r = \sum 2c_{ri}^2. \quad (62)$$

Это до известной степени формальный прием, но тем не менее он позволяет составить представление о фактическом распределении электронной плотности  $\pi$ -электронов молекулы.

Так, оказывается, что в бензоле, этилене, бутadiене значения  $\pi$  одинаковы для заполненных молекулярных орбиталей и равны единице, но в гетероцикли-



ческих соединениях для различных атомов заряды  $\pi$ -электронного облака не одинаковы. Значение электронных зарядов играет большую роль при вычислении дипольных моментов молекулы, так как дипольный момент складывается из момента, вызванного поляризацией  $\sigma$ -связей, и момента, соответствующего распределению  $\pi$ -электронов.

## § 7. Порядок связи

Рассмотрим теперь другое важное понятие — так называемый порядок связей. Чем выше электронная плотность в том месте, где находится связь, тем прочнее связь. В случае, когда электронная плотность в пространстве между атомами равна нулю, связь вообще не образуется (случай разрыхляющих орбиталей). Поэтому можно допустить, что «электронная нагрузка» на данную связь как-то зависит от тех коэффициентов  $c_i$  и  $c_k$ , при помощи которых из волновых функций атомов  $i$  и  $k$  получают функцию, отвечающую молекулярной орбитали (МО):  $c_i\psi_i + c_k\psi_k$ . Чем больше эти коэффициенты, тем сильнее отличаются МО от соответствующих АО. Коулсон предложил для характеристики прочности связи ввести понятие «порядок связи» и определил его как произведение коэффициентов  $c_i c_k$ ; общий порядок связи при  $N$  электронах на данной занятой орбитали будет:

$$R_{ik} = \sum N c_i c_k. \quad (63)$$

Несмотря на приближенный характер этих допущений, они все же дают ряд чисел, описывающих заряды и связи, и позволяют производить количественные сравнения, что очень важно для оценки реакционной способности атомов в молекуле.

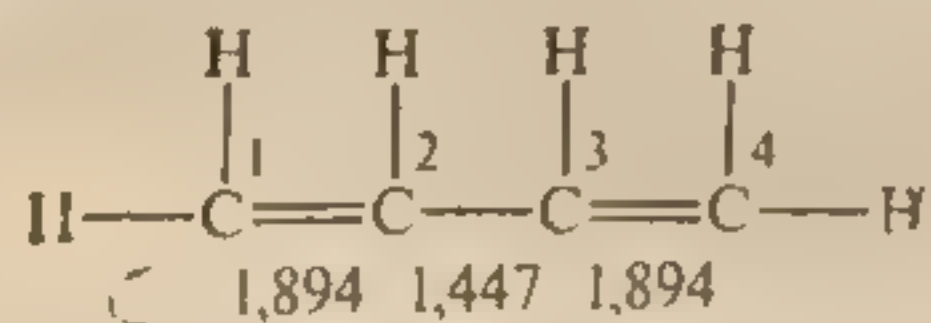
Порядок  $\sigma$ -связи принимают равным единице, и фактическая величина порядка данной связи дает представление о том, насколько связь обусловлена также и  $\pi$ -электронами, т. е. дает представление о степени ее «двоесвязанности» (Пюльман).

## § 8. Индекс свободной валентности

Индексом свободной валентности называют разность между максимальной величиной суммы порядков и той, которой обладает данный атом:

$$F_r = N_{\max} - N_r. \quad (64)$$

Понятие об индексах свободной валентности можно пояснить также на примере молекулы бутадиена. У этой молекулы порядки связей известны; их обычно указывают числами, которые ставят около связей:



Атом  $\text{C}_2$  в большей степени связан, чем атом  $\text{C}_1$ ; ему надо приписать меньшую свободную валентность.

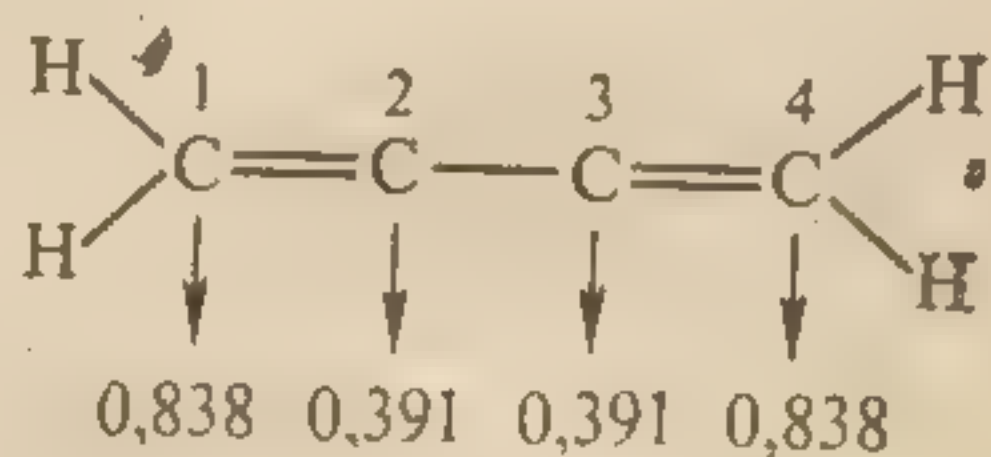
Действительно, найдем сумму порядков связей атома  $\text{C}_1$ . Этот атом образует три  $\sigma$ -связи (две с атомами  $\text{H}$  и одну с атомом  $\text{C}_2$ ); так как  $\sigma$ -связи имеют (условно) порядок 1, то их вклад равен 3. Кроме того, имеется еще одна  $\pi$ -связь (двойной связи 1,894). Итого, с порядком 0,894 (на схеме указан общий порядок двойной связи 1,894). Для атома  $\text{C}_1$  сумма порядков связей равна:  $3 \cdot 1,0 + 0,894 = 3,894 = N_1$ . Для атома  $\text{C}_2$  имеем:  $1,0 + 1,0 + 0,894 + 1,0 + 0,447 = 4,341 = N_2$ .

Разность  $(4,341 - 3,894)$  показывает, насколько атом  $\text{C}_1$  менее связан, чем атом  $\text{C}_2$ . Для определения максимальной величины связанности атома углерода



Робертс рассматривает структуру типа  $C(CH_2)_3$ , содержащую три  $\sigma$ - и три  $\pi$ -связи. Порядок каждой  $\pi$ -связи есть  $\sqrt{3/3}$ , сумма  $\sum p_{ij}$  порядков всех связей центрального атома углерода равна  $(\sqrt{3/3}) \cdot 3 + 3 = 4,132 = N_{\max}$ . Это и есть максимальная величина суммы порядков связей атома углерода. Отсюда для индексов свободной валентности атомов  $C_1, C_2, C_3$  и  $C_4$  получаем:  $F_1 - F_4 = 4,732 - 3,894 = 0,838$ ;  $F_2 - F_3 = 0,391$ .

Значения  $F_r$  (индексы свободной валентности) ставят на концах стрелок, перпендикулярных линии связи



Как правило, атомы, лежащие внутри молекулы, имеют малые значения  $F_r$ . В ароматических циклах у атомов углерода  $F_r$  около 0,4; концевые атомы углерода характеризуются  $F_r = 0,7 - 0,8$ .

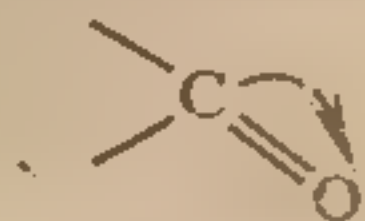
Атом, обладающий в сопряженной системе наибольшим индексом свободной валентности, как показывает опыт, дает и наибольшее сопряжение с  $\pi$ -электронами, если около него оказывается заместитель; это правило практически очень удобно. Оно позволяет понять свойства ряда замещенных производных бензола. Так, фенол обладает кислотными свойствами потому, что электроны кислорода входят в сопряжение с электронами ядра и отрицательный заряд кислорода уменьшается. Ион водорода легче отщепляется от группы  $OH$  в феноле, чем от  $OH$  в молекулах спиртов.

Чем больше индекс свободной валентности, тем сильнее будет выражен эффект повышения кислотности. Кислотность гидроксильного производного нафталина больше, чем фенола, так как у нафталина индекс свободной валентности выше. При этом  $\alpha$ -нафтол обладает большей кислотностью, чем  $\beta$ -нафтол. Если ввести вместо водорода в бензол аминогруппу, то сопряжение, оттягивающее электроны в ядро, приведет к тому же эффекту: на аминогруппе возникает положительный заряд. Протон с трудом может присоединиться к такой аминогруппе. Поэтому основность анилина должна быть ниже, чем основность алифатических аминов, — факт, хорошо известный в органической химии.

Предсказания, сделанные на основе величин свободной валентности, верны лишь при условии, что приближающаяся частица не вызывает сколь-нибудь существенной поляризации связей и перестройки электронной системы. Поэтому такие предсказания лучше оправдаются по отношению к радикальным реакциям. Радикал не несет заряда и не возмущает электронные системы в такой степени, как это может сделать ион. В затруднительных случаях приходится исследовать переходное состояние для того или иного пути реакции и выбирать тот, который связан с наименьшей энергией активности. Так, состояние двойной связи в карбонильной группе нельзя просто изобразить ни двумя черточками, ни ионной формулой:



Обе формулы выражают крайние состояния в распределении электронной плотности. В действительности, электронное облако несколько смещено по направлению к кислороду, что символически отмечается стрелкой:



Это смещение называют также мезомерным эффектом (Ингольд). Характерной чертой мезомерного эффекта является то, что он изменяет состояние перекры-



вания электронных функций, тогда как индуктивный эффект перекрывания не затрагивает.

Применение квантовомеханических приближенных методов имеет непосредственное значение для проблем фармакологии. При выяснении связей между фармакологическим действием и структурой молекулы нельзя ограничиться определением химической и пространственной структуры фармакологически активных молекул, поскольку лекарства с различной пространственной структурой часто обладают одинаковой фармакологической активностью. Для разрешения этой проблемы необходимо более точно определить электронную структуру разных по строению, но сходных по действию соединений. На основании таких расчетов можно попытаться найти корреляцию между показателями, характерными для электронной структуры, и фармакологическим действием. Вполне вероятно, что молекулы, которые содержат совершенно различные атомы, все-таки имеют идентичные показатели электронной структуры (например, плотность зарядов, индексы свободной валентности или значение энергии локализации) и, как следствие, одинаковое фармакологическое действие.

## ГЛАВА 6

### СЛАБЫЕ СИЛЫ ХИМИЧЕСКОЙ СВЯЗИ. МЕЖМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

#### § 1. Потенциальная энергия взаимодействия молекул

Опыт показывает, что между молекулами действуют силы притяжения и силы отталкивания.

Рассмотрим систему из двух молекул и обозначим силу взаимодействия  $F$ . Пусть сила действует на пути  $dr$ . Тогда работа силы будет равна  $Fdr$  — это изменение потенциальной энергии системы  $dU$ . Удаляя одну молекулу от другой на бесконечно большое расстояние, увеличим запас потенциальной энергии и доведем его до определенного (не равного бесконечности!) уровня. Если молекула возвращается из бесконечности в данную точку, то она может совершить работу и запас потенциальной энергии системы уменьшится. Условно считают уровень потенциальной энергии в бесконечности (т. е. ее максимальное значение) равным нулю и тогда все другие ее значения становятся отрицательными.

Поэтому изменение потенциальной энергии

$$dU = -Fdr, \quad U = -\int_0^{\infty} Fdr. \quad (65)$$

Вопрос о том, какова реальная зависимость потенциальной энергии взаимодействия от расстояния между молекулами, сложен и решается приближенными методами с использованием упрощенных «моделей». Потенциальная энергия состоит из  $U_{\text{отт}}$  и  $U_{\text{прит}}$ , т. е.

$$U = U_{\text{отт}} + U_{\text{прит}}. \quad (66)$$

Энергия отталкивания зависит от расстояния приблизительно по уравнению  $U_{\text{отт}} = ar^{-n}$ , где  $a$  и  $n$  — постоянные. Энергия притяжения (силы Ван-дер-Ваальса) складываются из сил различной природы (см. ниже). В сумме для неполярных молекул получается выражение

$$U = (a/r^n) - (b/r^m) \quad (\text{потенциал Леннард—Джонса}), \quad (67)$$

где  $n=12$ ;  $m=6$ ;  $a$  и  $b$  характеризуют молекулы данного типа.



## § 2. Силы Ван-дер-Ваальса

Силы Ван-дер-Ваальса относятся к дальнодействующим; их влияние обнаруживается на сравнительно больших расстояниях.

Эти силы проявляются в тех слабых взаимодействиях, которые существуют между валентно-насыщенными молекулами и обуславливают физическую адсорбцию, конденсацию газов и т. п.

Силы Ван-дер-Ваальса не вызывают значительных возмущений электронных оболочек молекул и представляют собой сложное явление — результат наложения силовых эффектов различной природы. Обычно выделяют ориентационные, индукционные и дисперсионные слагающие сил Ван-дер-Ваальса.

Ориентационная слагающая обусловлена тем, что плотность электрических зарядов в молекулах часто распределена неравномерно, т. е. электронная оболочка молекулы не симметрична. На расстояниях, больших по сравнению с размерами молекулы, такая несимметричная частица ведет себя приблизительно как диполь (т. е. система из двух точечных зарядов, противоположных по знаку, расположенных на определенном расстоянии друг от друга — нечто вроде стержня, заряженного противоположно по концам).

Диполи притягиваются друг к другу, ориентируясь так, чтобы концы, несущие противоположные по знаку заряды, располагались ближе, чем одноименно заряженные.

Дипольным моментом ( $\mu$ ) называют произведение расстояния между зарядами на величину заряда. Если зарядов много, то дипольный момент, являющийся вектором, определяют как сумму произведений  $\sum e_i r_i$ , где  $r_i$  — радиус-вектор заряда  $e_i$ . Радиус-вектор проводится из начала координат внутри системы зарядов в точку, где помещается заряд. Отсюда следует, что дипольные моменты суммируются как векторы и, в частности, могут полностью компенсировать друг друга. Тогда оказывается, что молекула, у которой по определенным направлениям (например, по направлениям связей) имеется электрическая асимметрия, в целом лишена дипольного момента. Это значит, что дипольные моменты связей в результате симметричной формы молекулы компенсируют друг друга. Указанные случаи реализуются, например, в молекулах тетрахлорметана или бензола, симметричное строение которых обуславливает нулевой дипольный момент, несмотря на наличие моментов связей C—Cl или C—H.

Энергия дипольного взаимодействия наибольшая, когда диполи ориентированы друг к другу одноименно заряженными концами, и наименьшая — при противоположной ориентации. Это крайние случаи; тепловое движение всегда нарушает строгую ориентацию. Величина энергии дипольного взаимодействия при произвольном взаимном расположении определяется выражением

$$U = -\frac{\mu_A \mu_B}{r^3} [2 \cos \theta_A \cos \theta_B - \sin \theta_A \sin \theta_B \cos (\varphi_A - \varphi_B)], \quad (68)$$

где  $r$  — расстояние между концами диполя;  $\theta_A$ ,  $\theta_B$  и  $\varphi_A$ ,  $\varphi_B$  — углы между вектором дипольного момента и осями в сферической системе координат. Если диполи ориентированы противоположно заряженными концами друг к другу, то уравнение упрощается:

$$U_{\min} = -\frac{2\mu_A \mu_B}{r^3}; \quad (69)$$

если диполи обращены друг к другу одноименными зарядами, то

$$U_{\max} = +\frac{2\mu_A \mu_B}{r^3}. \quad (70)$$

Силы дипольного взаимодействия  $\frac{\partial U}{\partial r}$  в этом случае обратно пропорциональны четвертой степени расстояния.



В тех молекулах, которые сами не имеют дипольного момента, он может создаваться, если молекула приближается к другой, обладающей постоянным дипольным моментом, — так возникают индукционные силы взаимодействия молекул. При этом происходит взаимная поляризация диполей и энергия индукционного взаимодействия в общем случае равна сумме энергий поляризаций двух диполей. Если оба диполя одинаковые, то энергия индукционного взаимодействия равна (в нулевом приближении):  $U = -\frac{2\alpha\mu^2}{r^6}$ , и в этом приближении не зависит от температуры.

Индукцированный дипольный момент пропорционален вектору напряженности внешнего поля и направлен в ту же сторону. Коэффициент пропорциональности  $\alpha$  зависит от природы молекулы и называется поляризуемостью.

Силы взаимодействия при индукционном эффекте обратно пропорциональны седьмой степени расстояния.

Опыт показывает, что и в тех случаях, когда ни одна из молекул не имеет постоянного дипольного момента (например, инертные газы), все же наблюдается действие сил притяжения, которыми, в частности, обуславливаются процессы конденсации газов.

Эти силы, проявляющиеся между молекулами любой природы, называются дисперсионными. Их вклад в общее межмолекулярное взаимодействие довольно значителен, особенно для молекул, имеющих малый дипольный момент. Энергия дисперсионного взаимодействия равна:

$$U_d = -\frac{3}{2} \frac{I_1 + I_2}{I_1 I_2} \frac{\alpha_1 \alpha_2}{r^6}, \quad (71)$$

где  $I$  — потенциалы ионизации атомов или молекул;  $\alpha$  — их поляризуемость.

Природа дисперсионных сил может быть истолкована с помощью следующей приближенной схемы: электрон, вращающийся вокруг ядра, можно представить как заряд, совершающий гармонические колебания. В среднем дипольный момент, вызванный движением заряда, конечно, равен нулю, но «мгновенные» значения дипольного момента отличны от нуля, и две такие системы будут взаимодействовать. Квантовомеханический расчет показывает, что между «мгновенными» диполями должна возникать сила притяжения.

Из уравнения (71) для энергии следует, что дисперсионные силы (т. е.  $\partial U / \partial r$ ) обратно пропорциональны шестой степени расстояния, т. е. очень быстро убывают с ростом расстояния. Дисперсионные силы заметно проявляют себя лишь на расстояниях порядка 3—5 Å. Приведем данные, показывающие примерные вклады в энергию взаимодействия между молекулами, обусловленные ориентационным, индукционным и дисперсионным эффектами (табл. 4).

Таблица 4

| Вещество       | Энергия на моль, Дж·м <sup>6</sup> |              |               |
|----------------|------------------------------------|--------------|---------------|
|                | ориентационная                     | индукционная | дисперсионная |
| Вода           | 190                                | 10           | 74,7          |
| Аммиак         | 84                                 | 10           | 93            |
| Хлороводород   | 18,6                               | 5,4          | 105           |
| Оксид углерода | 0,0034                             | 0,057        | 67,5          |

Для приближенной ориентации в энергетике различных видов межмолекулярных атомных и ионных взаимодействий полезно иметь в виду следующие ориентировочные данные (табл. 5).



Таблица 5

| Тип связи   | Взаимодействуют   | Энергия связи,<br>Дж/моль            |
|---|---|--------------------------------------|
| Ковалентная<br>Электровалентная                     | Атом — атом<br>Ион — ион  | 41,8—418<br>В кристалле<br>около 418 |
| Электростатический<br>эффект<br>Индукционный эффект | Ион — диполь<br>Диполь — диполь<br>Ион индуцирует диполь<br>Диполь индуцирует диполь<br>Взаимное индуцирование дипо-<br>лей | 6,3<br><br>0,8—8,4                   |

### § 3. Комплексы с переносом заряда. Донорно-акцепторные свойства молекул

Наличие в одной молекуле слабосвязанных электронов, ■ другой вакантных орбиталей создает условия для образования комплекса между ними: комплекс возникает ■ результате переноса частиц электронного заряда от молекулы донора ■ молекуле акцептора.

Молекулярные комплексы обычно неустойчивы; большое число их хорошо известно в органической химии.

Значение комплексов с переносом заряда для биологических систем, содержащих обширные сопряженные орбитали  $\pi$ -электронов, несомненно: лабильность и специфичность делают их особенно удобными средствами временного изменения состояния сопряженных  $\pi$ -электронных систем, что важно для пространственной ориентации, фиксации ■ данной точке молекулы, рецепторных эффектов лекарственных веществ и т. п.

Возможно, что в основе многих гормональных и фармакологических реакций лежит перенос заряда. Сент-Дьердьи (1964) высказал предположение, что транквилизирующее действие хлорпромазина обусловлено сильными донорными свойствами этого соединения, ■ галлюциногенное действие лизергиновой кислоты — делокализацией заряда атома С-3 индольного кольца. Он также считает, что ■ благоприятных условиях кортикостероиды могут вступать ■ донорно-акцепторные взаимодействия, отдавая целый электрон, и играют таким образом роль мощных доноров в процессе сильного переноса заряда. Другие стероиды (стилбэстрол, 17 $\beta$ -эсградиол или родственные им вещества) действуют как акцепторы. Уже получены результаты, согласно которым эстрогены являются катализаторами-переносчиками электронов.

В более широком плане решение вопроса, в какой точке сложной молекулы вообще проявится тенденция к присоединению электрона, а ■ какой наоборот, может обнаружиться стремление отдать его соответствующему партнеру, потребовало кропотливого изучения распределения зарядов между атомами сложных молекул.

В сложных молекулах взаимодействие электронов и соответствующее «расщепление» приводит к образованию большого числа энергетических уровней. Среди них имеются и вакантные уровни, т. е. незанятые электронами.

Приближенные квантовохимические методы позволяют оценить число уровней и энергию каждого из них. Таким образом, молекула характеризуется набором уровней, в котором различают высшие занятые уровни и низшие свободные. При межмолекулярном взаимодействии естественно совершается перенос заряда с высшего уровня на низший; это означает, что происходит образование некоторого комплекса и возникновение более или менее прочной связи.

За последние годы такой квантовомеханической обработке приближенными методами было подвергнуто большое число биологически активных молекул. Ре-



Таблица 7  
Энергия связи,  
Дж/моль  
41,8—418  
В кристалле  
около 418  
6,3  
0,8—8,4

зультаты, собранные в монографии Б. и А. Пюльман, позволяют сделать важные прогнозы относительно возможных точек связывания отдельных молекул друг с другом\*.

При определении числа энергетических уровней молекулы пользуются уравнением, являющимся одним из следствий квантовомеханической теории:  $E = \alpha + K\beta$ , где  $\beta$  — резонансный,  $\alpha$  — кулоновский интегралы;  $K$  — постоянная.

Оба эти интеграла отрицательны, поэтому большие положительные значения коэффициента  $K$  означают низшие энергетические уровни.

Смысл резонансного интеграла в том, что его величина дает энергию взаимодействия той части электронного облака, которая выражается произведением атомных функций с одним из ядер; кулоновский интеграл представляет энергию взаимодействия электронного облака данного атома с ядром другого атома.

Соответственно этому интегралы имеют вид: резонансный  $\int \frac{\psi_A \psi_B}{r_{AB}} dV = \beta$ ;

кулоновский  $\int \frac{\psi_A^2}{r_{AB}} dV = \alpha$ , где  $dV$  — элемент объема. Каждое значение коэффициента  $K$  отвечает определенному уровню энергии.

Так, например, в аденине (свободном) имеется 12  $\pi$ -электронов, занимающих шесть молекулярных орбиталей (термин «орбиталь» означает волновую функцию, а не орбиту в старом понимании этого термина). Орбитали с низшим уровнем энергии занимают первыми.

Чем больше самый высокий занятый уровень (меньше по абсолютной величине), тем активнее молекула как донор электрона; чем ниже находится самый низкий из свободных уровней, тем легче молекула ведет себя как акцептор электрона.

В молекуле аденина заняты уровни: 3,8106; 3,6542; 3,4268; 2,4668; 1,2632; 0,9739. Самый низкий из занятых уровней 0,9732. Наиболее низким свободным уровнем в аденине будет уровень 0,6138.

У гуанина наиболее низкий свободный уровень 0,5604 и соответственно аденин оказывается лучшим акцептором, чем гуанин. Еще лучшим акцептором, чем аденин, является тимин, у которого низший свободный уровень равен 1,2897. В то же время тимин — плохой донор, так как наивысший занятый уровень у него равен 1,8098.

Расчет того заряда, который на каждом атоме в молекуле гуанина обусловлен  $\pi$ -электронами («делокализованными»), показал, что на атоме кислорода (в положении 6) сосредоточен заряд —0,85 (т. е. состояние этого атома близко к иону  $O^-$ ), а на атоме азота почти нет заряда (он практически нейтрален). Отсюда следует, что именно эти атомы имеют наибольшие возможности быть связанными водородной связью с соответствующими атомами молекулы нуклеина.

#### § 4. Водородная связь

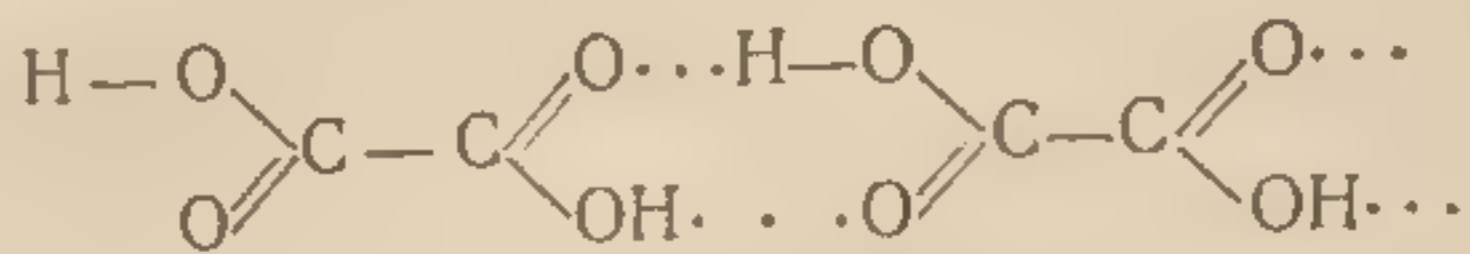
В биологических системах слабые силы взаимодействия играют существенную роль, так как многие звенья метаболических процессов могут реализоваться лишь при условии, что разрываемые связи не обладают высокой энергией.

Кроме тех видов взаимодействий, которые были рассмотрены выше, особенно важной является водородная связь.

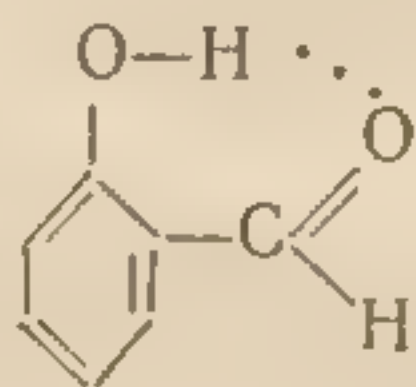
\* Иногда между взаимодействующими частицами появляется ион двухвалентного металла (марганца, магния и др.), осуществляющий мостиковую связь. Если в переносе заряда существенную роль играют  $\pi$ -электроны, то в случае мостиковой связи возможно участие и  $\sigma$ -электронов.



Теория водородной связи построена на экспериментальных данных, полученных с помощью инфракрасных спектров и спектров комбинационного рассеяния соединений, содержащих атомы водорода, которые расположены так, что они могут взаимодействовать одновременно с двумя другими атомами, как, например, в кристаллах щавелевой кислоты:



или в салициловом альдегиде:



В зависимости от окружения атома водорода наблюдаются характерные смещения спектральных линий и изменения их интенсивности и формы. Повышенное значение температуры кипения и диэлектрической проницаемости ряда жидкостей, из которых на первое место следует поставить воду, также наводит на мысль об ассоциации молекул и существовании каких-то сил связи, действующих между ними. Данные ядерного магнитного резонанса и анализа размещения атомов водорода в твердых кристаллических телах дают дополнительные подтверждения, что атом водорода (точнее протон) может быть связующим звеном между атомами, имеющими пары электронов:  $A:H:B$ .

Протон, находящийся между атомами А и В, совершает колебательные движения, так что кривая потенциальной энергии его должна иметь один (иногда два) минимум. Как правило, в образовании водородной связи участвуют полярные связи типа азот — водород, кислород — азот, сера — водород, фтор — водород, но не связь углерод — водород!

Электростатический характер водородной связи и ее специфичность, по-видимому, обусловлены тем, что протон не имеет электронов, и это обстоятельство исключает возникновение сил отталкивания при сближении атомов, участвующих в образовании связи. Надо подчеркнуть, что это относится лишь к слабым водородным связям, энергия которых равна приблизительно 8,2—25,2 Дж/моль. Небольшие атомы, например атомы фтора или бора, могут образовывать сильные водородные связи, энергия которых на целый порядок выше (около 210 кДж/моль).

В: Н: В. В этих связях электроны, несомненно, делокализованы. Водородные связи играют важную роль в формировании структуры молекул.

Водородные связи играют важную роль в стабилизации структуры белковой молекулы, формировании структуры воды и льда, во взаимодействиях нуклеоти- дов и т. д.

Реакции, связанные с переносом протона, могут протекать по нонному механизму (одна молекула теряет протон, а другая затем его присоединяет). Однако при наличии свободной электронной пары энергетически выгоднее, как показал А. И. Бродский, течение реакции через переходное состояние с водородными связями.

В системах, содержащих сопряжение  $\pi$ -электроны, водородная связь имеет гораздо большую энергию — до 84 кДж/моль (Д. Н. Шигорин) и большую прочность. Водородные связи могут возникать не только между разными молекулами, но и внутри одной молекулы (внутримолекулярная водородная связь), как это происходит, например, в молекуле салицилового альдегида.

Молекулы белка, содержащие группы CO и NH и имеющие спиральную конфигурацию, поддерживают эту конфигурацию за счет многочисленных внутримолекулярных водородных связей.

Ассоциация молекул в жидкостях часто обусловлена водородными связями.



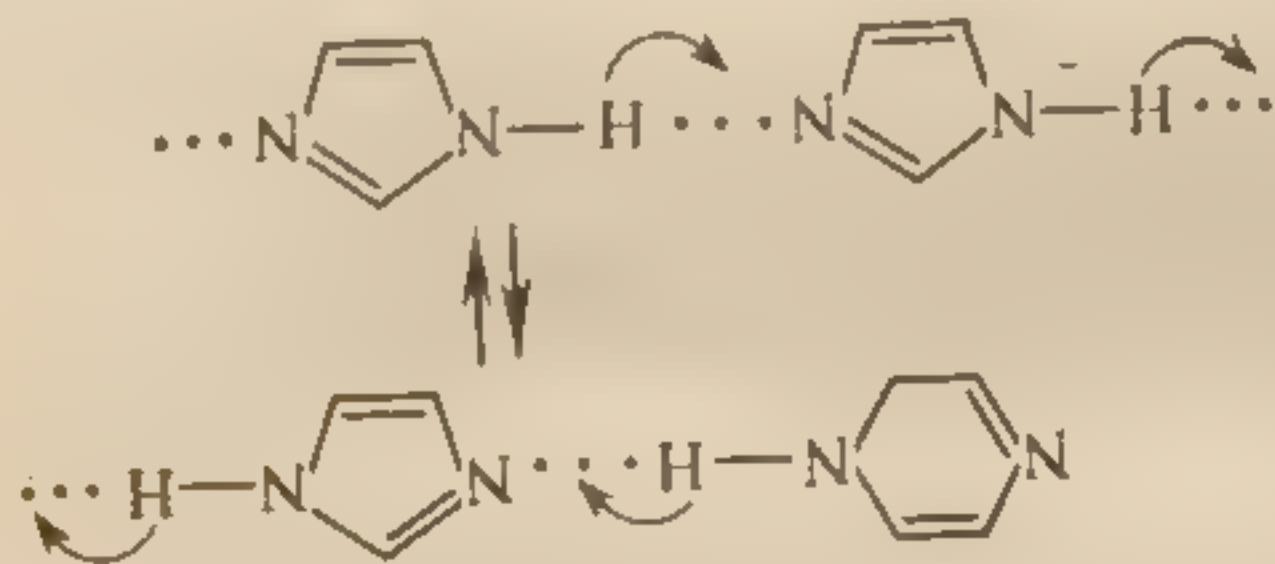
Между молекулами, связанными водородной связью, может происходить обмен протонами, основанный на «туннельном эффекте». Этот квантовомеханический эффект представляет собой переход заряженной частицы (электрона или протона) между состояниями, которые разделены энергетическим барьером.

Волновые свойства частиц проявляются в том, что частица, даже не имея энергии, достаточной для преодоления барьера, все-таки проходит сквозь него (отсюда и название «туннельный переход», или «туннельный эффект»).

Протон, участвующий в водородной связи, находится ближе к одному из партнеров по связи и соответственно для перехода к другому должен перейти через барьер. Но существует вероятность перехода и для случая, когда энергия протона ниже высоты энергетического барьера; вероятность тем больше, чем ближе уровни энергии протона у обеих молекул, участвующих в образовании водородной связи.

Между основаниями, если они одинаково заряжены в ДНК (например, в паре А—Т), протоны могут переходить оба одновременно так, что основание теряет протон и одновременно получает другой протон от партнера (образуются таутомерные формы оснований). Другой тип перехода состоит в том, что основание получает (соответственно отдает) протон «без компенсации». В этом случае, который реализуется при условии, что основания имеют разные заряды, конечным результатом будет появление заряженных пар оснований.

В некоторых случаях возможны переходы протона, связанного водородной связью, из одного положения в другое, что проявляется в инфракрасном спектре соединения расщеплением колебательных уровней. Примером может служить поведение молекул имидазола в неполярных растворителях; в комплексе, образованном молекулами имидазола, происходят своеобразные переносы протона типа «туннельного перехода»:



Следовательно, водородная связь — не только фактор, стабилизирующий определенную структуру, но вместе с тем она может обусловить и развитие процесса перестройки структуры, ведущей к существенным изменениям генетической информации, заключенной в молекуле.

Существование различных видов связей имеет большое значение для молекулярной и биохимической фармакологии. Действительно, лекарственные вещества по-разному взаимодействуют с молекулами-мишенями в зависимости от химической структуры.

Например, гидролиз ацетилхолина существенно зависит от электростатического взаимодействия катионной группы этого соединения и анионного участка фермента ацетилхолинэстеразы. Такое взаимодействие обеспечивает надежную фиксацию субстрата на активном центре, необходимую для начала процесса гидролиза ацетилхолина.

Электростатическим является связывание с мембранами бактериальных клеток антибиотиков группы полимиксинов. Процесс заключается в образовании комплекса отрицательно заряженных мембранных липидов и положительно заряженных молекул пептидных полимиксинов. Для незаряженных соединений весьма характерен гидрофобный тип взаимодействия, при котором нековалентное связывание гидрофобных участков молекул веществ приводит к образованию довольно прочного комплекса. По такому типу взаимодействуют липиды мембран



и стероидные гормоны, это же взаимодействие стероидов и митохондриальных ферментов (НАДН-дегидрогеназ) обуславливает ингибирование каталитической активности ферментов и потерю способности переносить электроны.

Уже отмечалась важная роль водородных связей ■ биологии вообще; например, большое значение эти связи играют ■ нуклеиновых кислотах, обеспечивая взаимодействие между комплементарными основаниями. Влияя лекарственными препаратами на ДНК, можно разорвать водородные связи и существенно изменить функционирование этой кислоты. Изучение природы взаимодействия лекарственных препаратов с молекулами-мишенями — в настоящее время одна из главных проблем молекулярной фармакологии.

## ГЛАВА 7

### ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ

#### § 1. Электрохимический потенциал

Большое число химических реакций сопровождается существенным перераспределением электронной плотности. В результате реакций между типичными металлами — донорами электронов — и типичными неметаллами, атомы которых являются акцепторами электронов, происходит процесс переноса электрона от металла к неметаллу и, хотя, строго говоря, и в этом случае возникает молекулярная орбиталь, продукт реакции можно рассматривать как ионное соединение. Если же реакция протекает между атомами, у которых донорные и акцепторные функции выражены нерезко, получается ковалентное соединение; но все же и в этом случае электронная плотность вокруг каждого атома как-то изменяется. Это обычно отмечают, указывая на изменившуюся степень окисления атомов.

Для сравнительной оценки способности отдавать и присоединять электроны стремятся разделить пространственно соединения-партнеры и достигнуть установления равновесия между каждой из этих частиц и ее окисленной или восстановленной формой.

В водных растворах мерой способности вещества отдавать или присоединять электроны может служить, как известно, электрохимический потенциал.

Условились называть разность потенциалов между инертным электродом в данной системе и водородным стандартным электродом окислительно-восстановительным потенциалом или редокс-потенциалом системы.

Стандартное значение редокс-потенциала есть такое его значение, которое получается, если в исследуемом растворе активности окисленной и восстановленной форм равны (единице).

Если ограничиться стандартными условиями, т. е. концентрациями (активностями) принимать равными единице, то можно составить удобные таблицы, на основании которых по величине стандартного редокс-потенциала можно судить о направлении той или



иной окислительно-восстановительной реакции. Все системы, имеющие более положительный редокс-потенциал, чем данная, будут данную систему окислять, а системы, имеющие менее положительный потенциал, — восстанавливать. Иначе можно сказать, что при взаимодействии двух систем окисляется та, потенциал которой имеет меньшую положительную (или большую отрицательную) величину.

## § 2. Цепи переноса электронов в биологических системах

Основой биологического окисления является перенос атомов водорода от окисляемого вещества (например, от углеводов) к кислороду (электроны при этом присоединяются в конечном счете к атому кислорода, а ионы водорода образуют с ионами кислорода воду или пероксид водорода). Примером такой реакции может служить работа дыхательной цепи митохондрий. В этих органеллах энергия запасается в форме энергии химических связей (АТФ). Такой способ аккумуляции энергии неизбежен, поскольку живая клетка в отличие от небιологических систем не может производить работу за счет разности температур. Отщепленный от трикарбоновых кислот (субстратов окисления) водород переносится к активному центру дегидрогеназы — никотинамиддинуклеотиду (НАД), способность которого обратимо окисляться и восстанавливаться обеспечивает перенос протонов к следующему пункту цепи (точнее сказать, только на НАД поступает водород, а далее он, ионизируясь, переносится к конечному пункту не по цитохромам и цитохромоксидазе, а перемещаясь в среде). По указанным переносчикам на каждый акт переноса транспортируется пара электронов, которая вместе с протонами «добираясь» к конечному пункту дыхательной цепи, взаимодействует с кислородом и образует молекулу воды. Этим заканчивается процесс биологического окисления субстратов, обеспечивающий сложным путем окислительного фосфорилирования запас энергии в клетке в виде энергии АТФ.

С точки зрения фармакологии, интересной представляется возможность влиять на дыхательную цепь химическими агентами. Весьма важен факт избирательного ингибирования многими агентами определенных участков цепи: инсектициды ротенон и барбитурат амитал специфически ингибируют первый пункт (НАДН — флавопротеид): второй пункт окислительного фосфорилирования (зона цитохром *b* — цитохром *c*) блокируется антибиотиком антимицином А, наконец, цианиды ингибируют цепь переноса в конечном пункте — цитохромоксидазе. Естественные биорегуляторы — стероидные гормоны, взаимодействуя с НАДН-дегидрогеназой, приводят к ингибированию переноса электронов дыхательной цепи в первом пункте. Гормоны щитовидной железы — тироксин и триидтиронин — также активно влияют на скорость окисления в митохондриях. Активируя ферменты, участвующие в этом процессе, увеличивая содержание цитохромов, тиреоидные гормоны весьма



существенно повышают скорость дыхания, т. е. скорость окислительной реакции. Возможность влиять с помощью химических веществ на функционирование дыхательной системы митохондрий крайне важна как для изучения работы самой этой системы (биохимический аспект), так и для фармакологической коррекции нарушений цепи переноса при патологии.

С каждым годом перспективы исследований в этой области расширяются, и успехи, достигнутые к настоящему времени, позволяют считать, что изучение слабых специфических взаимодействий представляет одну из наиболее перспективных ветвей современной фармакологии.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Николаев Л. А. Физическая химия. — М.: Высшая школа, 1974.  
Николаев Л. А. Биокатализаторы и их модели. — М.: Высшая школа, 1972.  
Сергеев П. В., Сейфулла Р. Д., Майский А. И. Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов. — М.: Наука, 1971.  
Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. — Л.: Наука, 1963.  
Netter H. Theoretical Biochemistry, Oliver and Boyd, 1969.  
Gondot A. La chimie quantique appliquée à l'étude du DNA et RNA, Acad. Frances, 1967.

МЕТАБ  
ЛЕКА

БИОХИМИ  
ЛЕКАРСТВЕН

Развитие современной фармакологии вводят химические препараты, терапевтический эффект которых обусловлен восстановлением биохимических функций, являющихся биотиком, чужеродными путями живой клетки.

Для большинства новых препаратов не решен вопрос, что происходит при взаимодействии фармакологического препарата с организмом, каков путь его превращения, каковы механизмы их терапевтического действия, какова фармакологическая необходимость их применения, какова судьба лекарств при их попадании в организм.

В физиологических тканях фармакологический препарат превращается в фармакологически активные вещества, а фармакологическая активность исчезает, а фармакологическая активность устанавливается. Установлено, что фармакологическая активность устанавливается в организме, а фармакологическая активность устанавливается в организме, а фармакологическая активность устанавливается в организме.

Фармакологическая активность устанавливается в организме, а фармакологическая активность устанавливается в организме, а фармакологическая активность устанавливается в организме. Фармакологическая активность устанавливается в организме, а фармакологическая активность устанавливается в организме, а фармакологическая активность устанавливается в организме.



## ЧАСТЬ II

### МЕТАБОЛИЗМ И БИОТРАНСПОРТ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

---

#### ГЛАВА I

#### БИОХИМИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ

Развитие современной фармакологии привело к тому, что в организм вводятся химические вещества, обладающие многогранным терапевтическим эффектом. Однако лекарственные вещества, способствуя восстановлению нормального течения и ритма физиологических функций, являются так же, как и любые другие ксенобиотики, чужеродными веществами для обычных метаболических путей живой клетки.

Для большинства новых лекарственных веществ окончательно не решен вопрос, что происходит с ними в организме, каков механизм взаимодействия фармакологического препарата с рецептором, каков путь его превращения в организме, каким образом реализуются их терапевтические свойства. Не вызывает сомнения необходимость точно представлять, осуществляется ли специфическое фармакологическое действие самим вводимым препаратом или же его метаболитами, каков механизм побочных явлений и какова судьба лекарств при их комбинированном применении.

Попав в организм, лекарственное вещество преодолевает ряд физиологических тканевых барьеров и подвергается определенным метаболическим превращениям, в результате чего биологическая активность фармакологических препаратов может снижаться или полностью исчезать, а в некоторых случаях, наоборот, увеличиваться. Установлено, что основные метаболические превращения лекарственных веществ протекают в печени, хотя биотрансформация ксенобиотиков параллельно происходит в легких, плаценте, слизистой кишечника и в других органах. По-видимому, ферменты, участвующие в процессах детоксикации фармакологических препаратов, расположены практически во всех тканях и жидких средах организма. Как правило, чужеродные вещества или эндогенные субстраты превращаются в более полярные водорастворимые молекулы ферментами различных органелл клетки. Например, попадая в организм, толуюл окисляется ферментами эндоплазматического ретикулума до бензилового спирта, который в ци-



топлазме окисляется до бензойной кислоты. Последняя, в свою очередь, соединяется с глицином. Образующийся бензоилглицин (гиппуровая кислота) хорошо растворима в воде и поэтому легко выводится с мочой (Э. Альберт, 1971).

Однако основная роль в биотрансформации лекарственных средств отводится ферментам эндоплазматического ретикула клеток печени.

Знание основных закономерностей метаболизма веществ необходимо для характеристики лечебных и токсических свойств лекарств, для синтеза и внедрения новых фармакологических препаратов. В связи с этим изучение метаболических превращений чужеродных соединений на мембранном уровне представляет несомненный интерес для фармакологии и токсикологии.

Для понимания процессов метаболизма чужеродных веществ необходимо тщательное исследование, во-первых, функционирования самих мембран, во-вторых, механизма биологического действия ксенобиотиков и их метаболитов на функциональную активность изучаемых систем. Все это позволит по-новому осмыслить молекулярные механизмы функционирования клетки и регуляции клеточного метаболизма в целом.

### § 1. Роль эндоплазматического ретикула печени в биотрансформации лекарственных веществ

Развитие электронной микроскопии позволило исследователям в 1945 г. обнаружить в эндоплазме клеток вакуолярную систему, которая имеет вид ограниченных мембранных структур. В 1953 г. Портер назвал эту структуру клетки эндоплазматической сетью, или ретикулом. Это название осталось доминирующим в современной литературе, хотя существует множество синонимов \* — «эргастоплазма», «вакуолярная система» и др.

Многие исследователи считают, что разветвленная сеть каналов, ограниченных двойными мембранами, представляет разрезы через плоские пузырьки и цистерны (К. Портер, 1963; Д. Грин, Г. Гольдбергер, 1968).

По мнению Уотсона, наружная мембрана ядерной оболочки во многих местах переходит в мембрану эндоплазматической сети (Watson, 1955). Эндоплазматическая сеть тесно связана с выпячиванием клеточной оболочки в цитоплазму. Эргастоплазма сообщается с аппаратами Гольджи, окружает митохондрии. Из этого следует, что эндоплазматическая сеть представляет собой общую внутриклеточную систему, объединяющую все клеточные органеллы в единое целое, являясь динамическим скелетом клетки (А. И. Арчаков, 1973).

Эндоплазматический ретикулум — совокупность двух типов мембран: шероховатых (гранулярных) и гладких (агранулярных). Мембраны шероховатой эндоплазматической сети с цитоплазматической стороны имеют множество рибосом, на которых, по мнению ряда авторов, происходит синтез белков и ферментов, участвующих в метаболизме лекарственных веществ.

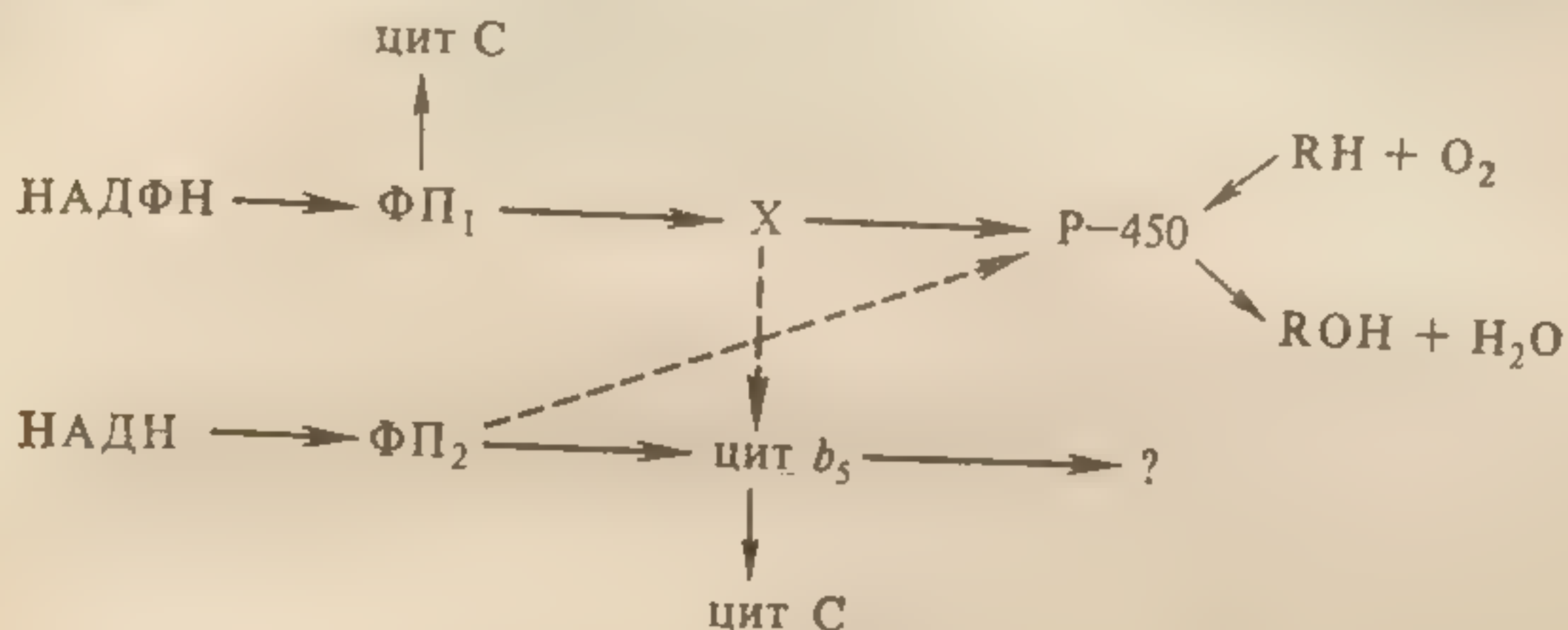
Установлено, что метаболические превращения лекарственных, канцерогенных, токсических веществ, а также эндогенных субстратов (гормонов) осуществляется ферментативными системами, локализованными в эндоплазматическом ретикуле печеночных клеток.

\* Согласно Международной гистологической номенклатуре, для данной клеточной структуры предлагается термин «цитоплазматическая сеть».



Одна из этих систем специфична к НАДФН, а другая — к НАДН.

Взаимоотношения между основными компонентами НАДФН- и НАДН-зависимых цепей переноса электронов представлены в схеме, которую предложил Оррениус (1971):

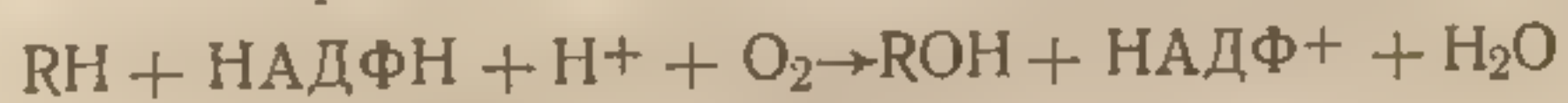


Как видно из схемы, в НАДФН-зависимой цепи промежуточными акцепторами электронов являются флавопротеид (ФП<sub>1</sub>) и неидентифицированный компонент «X». Терминальный участок цепи представлен цитохромом Р-450. Для НАДН-зависимой цепи не установлен конечный акцептор электронов.

Суть реакций окисления, которые участвуют в детоксикации ядов и метаболизма некоторых эндогенных субстратов, состоит в гидроксилировании, т. е. во введении гидроксильной группы в структуру фармакологического препарата, что делает последний более полярным и облегчает выведение его почками. Гидроксильная группа может быть введена в молекулу в результате окисления, восстановления или гидролиза.

При помощи меченого кислорода было показано, что, во-первых, в реакциях гидроксилирования участвует молекулярный кислород воздуха, во-вторых, один атом кислорода восстанавливается до воды, а другой инкорпорируется в составе гидроксильной группы в молекулу метаболизируемого субстрата.

Процесс можно представить в виде следующего уравнения:



(RH — фармакологический препарат).

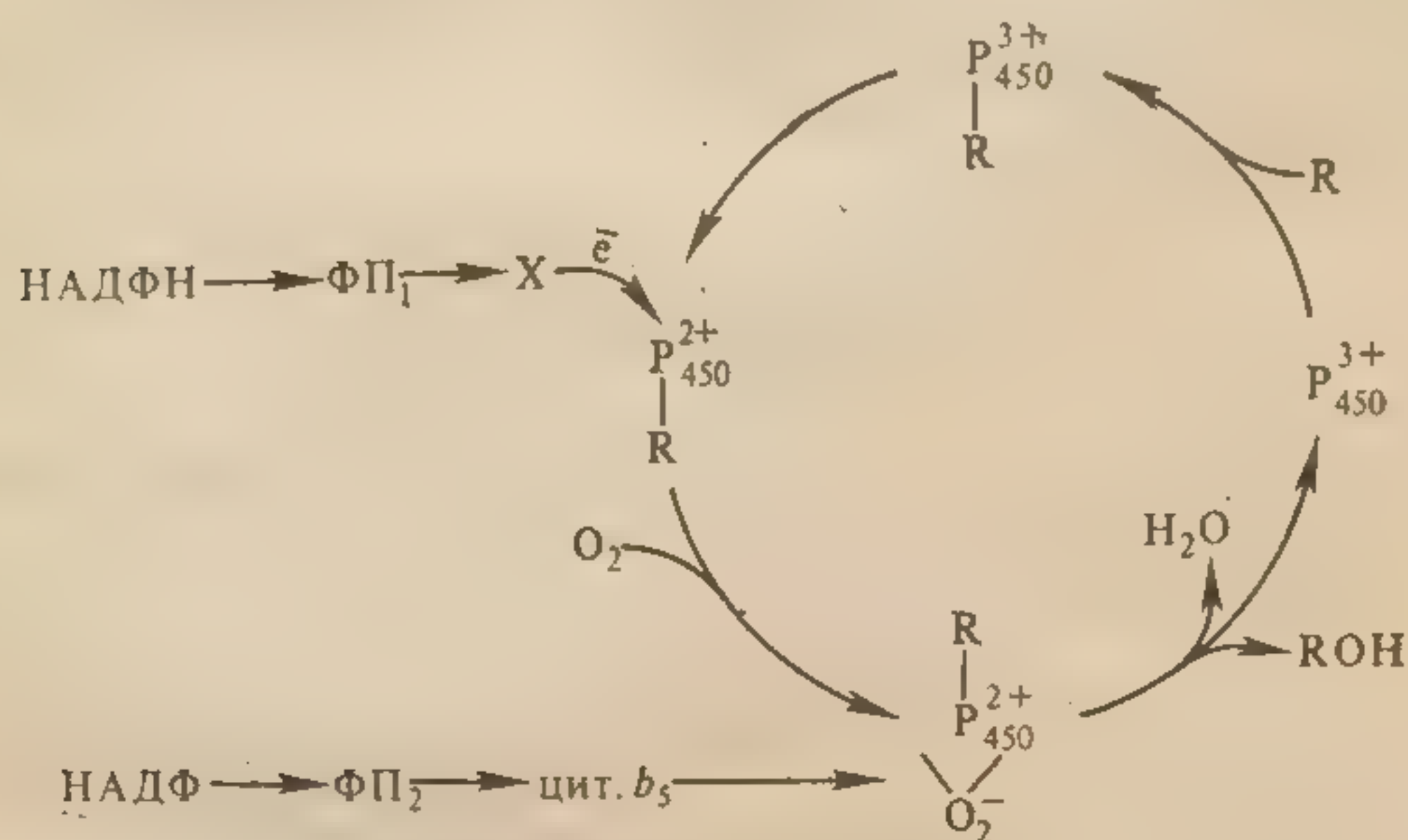
Система микросомального гидроксилирования состоит, по меньшей мере, из двух каталитических компонентов: цитохрома Р-450 и флавопротеида. Последний катализирует восстановление этого цитохрома посредством НАДФН<sub>2</sub> и называется НАДФН-цитохром-Р-450-редуктазой. Некоторые авторы предполагают, что данный флавопротеид помимо своей основной функции (переноса электронов в гидроксилирующей системе) может катализировать и некоторые оксигеназные и редуктазные реакции. Этот фермент обладает абсолютной специфичностью к НАДФН, однако его природный акцептор электронов еще не установлен. Следует отметить, что в последнее время в литературе появились сообщения о том, что роль неизвестного компонента, обозначаемого в дан-



ной цепи переноса электронов как компонент «X», может выполнять цитохром  $b_5$  (А. И. Арчаков, 1973).

Цитохром Р-450 представляет собой фосфолипидпротогемсульфидпротеиновый комплекс, который в восстановленной форме имеет сродство к оксиду углерода. Свое название этот цитохром получил ввиду того, что в восстановленном состоянии он образует

Схема 1



довольно прочный комплекс с СО, имеющий максимум поглощения при 450 нм.

По современным представлениям, роль цитохрома Р-450 заключается в связывании с субстратом, что ведет, по-видимому, к изменению электронной структуры как самого цитохрома, так и субстрата. С другой стороны, цитохрому Р-450 отводится большая роль в активации молекулярного кислорода.

Механизм гидроксилирования включает пять основных стадий процесса (схема 1). Как видно из схемы, на первой стадии метаболизируемый субстрат связывается с окисленной формой цитохрома Р-450. Образующийся цитохром-субстратный комплекс обладает спектром поглощения, причем в зависимости от субстратов обнаруживаются спектральные изменения двух типов. Гексобарбитал, амидопирин, амобарбитал, фенобарбитал и другие вызывают спектральные изменения первого типа — максимум поглощения при 395—390, минимум при 420—425 нм. Анилин, метапирин дают при связывании с цитохромом Р-450 второй тип спектральных изменений, похожий на зеркальное изображение первого — с максимумом поглощения при 425—435 и минимумом при 390—400 нм.

Вторая стадия гидроксилирования заключается в восстановлении фермент-субстратного комплекса. Затем идет образование тройного комплекса: восстановленный цитохром Р-450 — субстрат — кислород. Четвертая стадия включает в себя активирование молекулярного кислорода в этом комплексе путем его восста-



новления. Завершается этот цикл распадом образовавшегося комплекса на окисленный цитохром Р-450, гидроксилированный продукт метаболизма и воду.

Круг реакций, осуществляемых ферментативными системами печени, широк. Воспользуемся классификацией, предложенной Арчаковым (1975), для наиболее важных реакций окисления — восстановления, протекающих в мембранах эндоплазматического ретикулума печени:

#### *НАДФН-зависимые реакции*

##### **I. Окисление ксенобиотиков**

1. Окислительное деалкилирование: N-деалкилирование; O-деалкилирование; S-деалкилирование.

2. Гидроксилирование циклических соединений: гидроксилирование ароматических углеводов; гидроксилирование циклических предельных углеводов; гидроксилирование гетероциклических углеводов.

3. Гидроксилирование алифатических соединений: гидроксилирование алифатических предельных углеводов (алканов); гидроксилирование алкильной боковой цепи.

4. N-Окисление: образование N-оксидов; N-гидроксилирование.

5. Окислительное дезаминирование.

6. S-Окисление и десульфирование.

##### **II. Окисление природных субстратов**

1.  $\omega$ -Окисление насыщенных жирных кислот.

2. Гидроксилирование стероидов, желчных кислот и холестерина.

3. Биосинтез простагландинов.

4. Пероксидное окисление ненасыщенных жирных кислот.

5. Гидропероксидазные реакции в микросомах.

##### **III. Реакции восстановления**

1. Восстановление нитросоединений.

2. Восстановление азосоединений.

3. Восстановительное дегалогенирование.

#### *НАДН-зависимые реакции*

I. Реакция десатурации насыщенных жирных кислот

II. Восстановление семидегидроаскорбиновой кислоты

##### **III. Реакция гидроксилирования**

1. Гидроксилирование кинуренина.

2. Гидроксилирование фенолов и анилина.

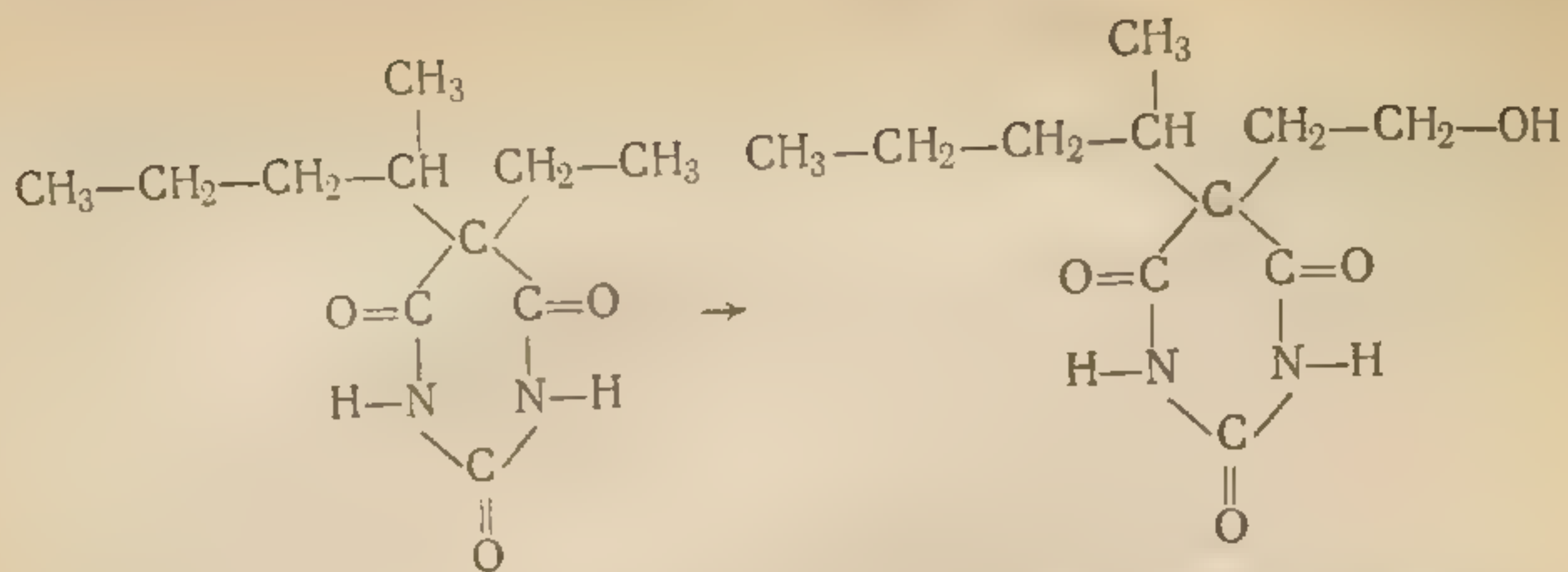
Таким образом, эндоплазматический ретикулум клеток печени располагает набором различных ферментов, которые осуществляют метаболические превращения лекарственных веществ.

## **§ 2. Основные типы реакций превращения лекарственных веществ в эндоплазматическом ретикулуме печени**

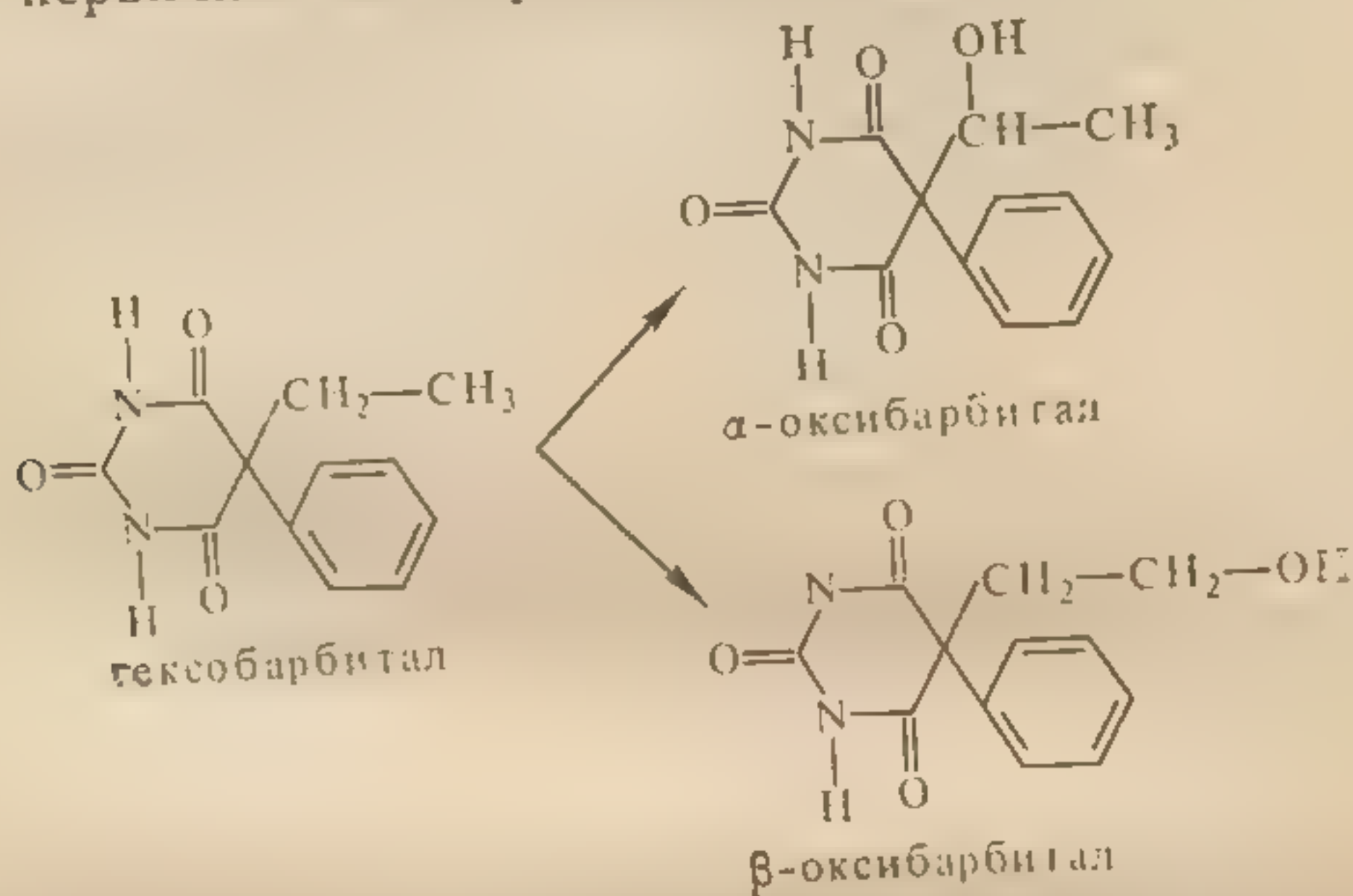
**C-гидроксилирование алифатических соединений**, осуществляемое микросомальными ферментами печени, можно представить следующим образом:  $RCH_3 \rightarrow RCH_2OH$ . Обычными субстратами в этих реакциях служат боковые цепи барбитуратов.

Например, этаминал легко гидроксилируется в организме и выводится в следующем виде:





Данная реакция протекает на цитохроме Р-450 в присутствии кислорода. Боковая цепь барбитуратов и других лекарственных веществ окисляется ферментами эндоплазматического ретикулума печени до первичных и вторичных спиртов:



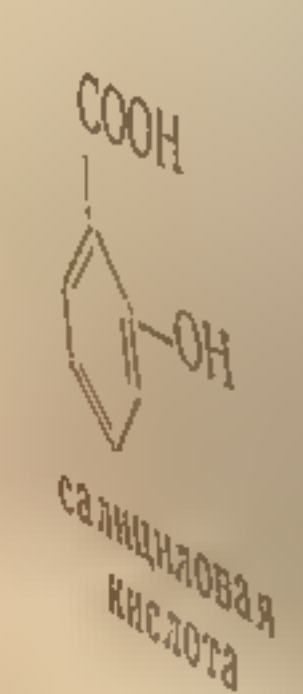
Эта реакция может ингибироваться типичными ингибиторами цитохрома Р-450 (SKF-525A, СО и др.) и индуцироваться фенобарбиталом. Гексобарбитал относится к барбитуратам короткого действия, в организме помимо гидроксилирования он дезактивируется N-деметилированием и разрывом барбитурового кольца.

**С-гидроксилирование ароматических соединений.** Ароматическое гидроксилирование приводит к образованию соединений фенольного типа в результате включения гидроксильной группы в ароматическое кольцо бензола, полициклических углеводородов, гетероциклических соединений и их производных. Типичные субстраты гидроксилируются почти исключительно в *пара*-положении (90%), не более 10% продукта гидроксилируется в *орто*-положении. Если же полициклические ароматические углеводороды не содержат в кольце заместитель, то они могут гидроксилироваться в разных положениях. Реактивность кольца в значительной степени влияет на скорость гидроксилирования ароматических субстратов и на положение вводимой ОН-группы. Большинство полициклических углеводородов имеет две характерные области реактивности: *К*-область, наиболее реакционное место, по которому происходит связывание с тканями, и *Л*-область, место вторичной

реактивность...  
Пара...  
Микро...  
более чем в...  
п-гидрокси...  
Гидрокси...  
реть на...  
НАС...  
ацетанил...

Из всех полициклических...  
шено в литературе гидро...  
ства производных бенз...  
является цитохром Р-448...  
реном или бензпиреном...  
Schenkman (1972), содержа...  
рость гидроксилирования...  
сомах.

Для салициловой кис...  
организма в неизменном...  
в печени салициловая кис...  
диоксибензойную и триокс...



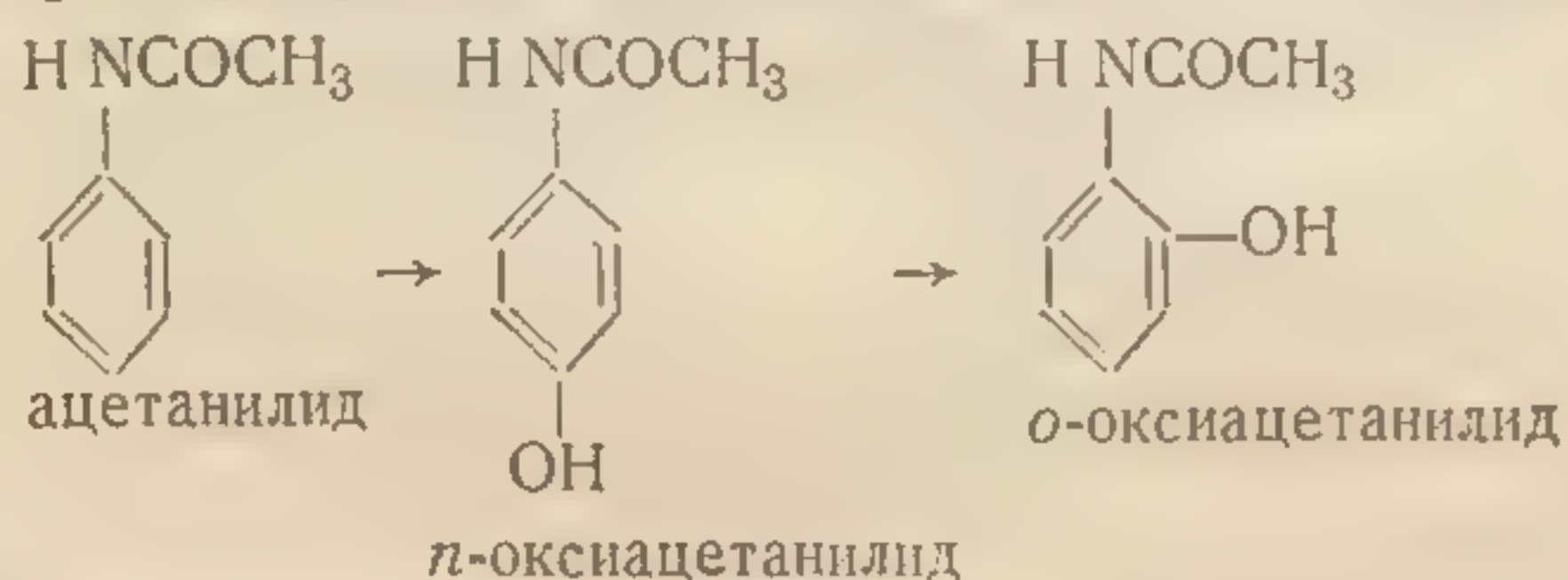
Окислительное деалки...  
ством в организме алки...  
лирования. Наиболее ча...  
кислорода, азота или...  
тиям О-, N- и S-деалки...  
ROCH<sub>3</sub> → ROH



реактивности, по которому обычно происходит гидроксилирование (Д. Парк, 1973).

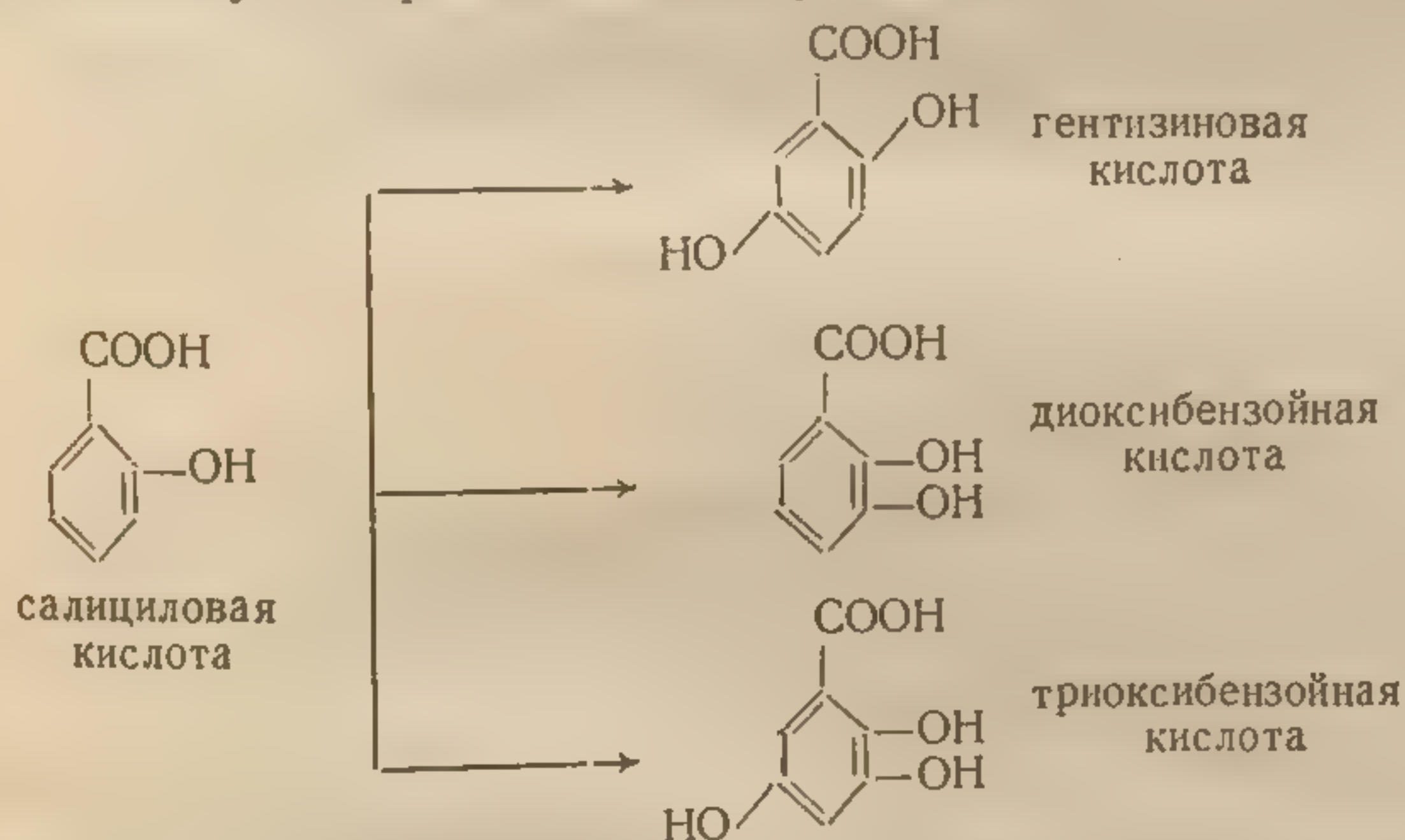
Микросомы могут гидроксилировать ароматическое кольцо более чем в одном положении. Так, ацетанилид дает не только *p*-гидроксидериваты, а также *o*- и *m*-изомеры.

Гидроксилирование ароматических соединений можно рассмотреть на примере превращения ацетанилида в *o*-оксиацетанилид:

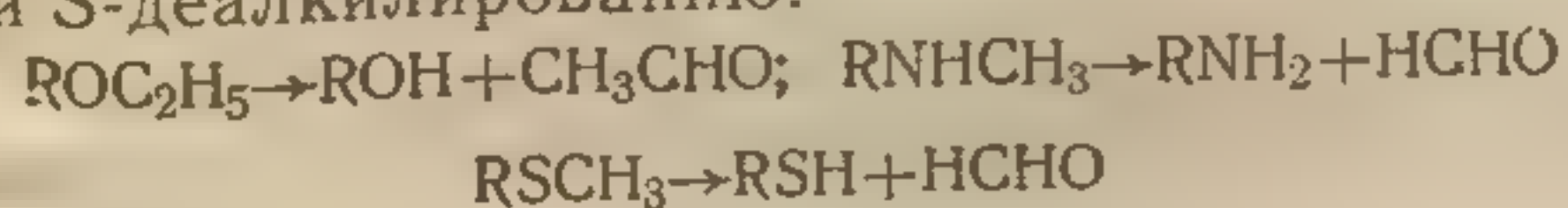


Из всех полициклических углеводородов наиболее полно освещено в литературе гидроксилирование бензпирена. Для большинства производных бензпирена гидроксилирующим ферментом является цитохром Р-448, который индуцируется 3-метилхолантеном или бензпиреном, но не фенобарбиталом. По мнению Schenkman (1972), содержание цитохрома Р-448 определяет скорость гидроксилирования субстратов в неиндуцированных микросомах.

Для салициловой кислоты установлено, что она выделяется из организма в неизмененном виде и форме глюкуронидов. Однако в печени салициловая кислота гидроксилируется в гентизиновую, диоксибензойную и триоксибензойную кислоты:



**Окислительное деалкилирование.** Потеря лекарственным веществом в организме алкильных групп называется процессом деалкилирования. Наиболее часто эти группы отщепляются от атомов кислорода, азота или серы, что приводит соответственно к понятиям *O*-, *N*- и *S*-деалкилированию:

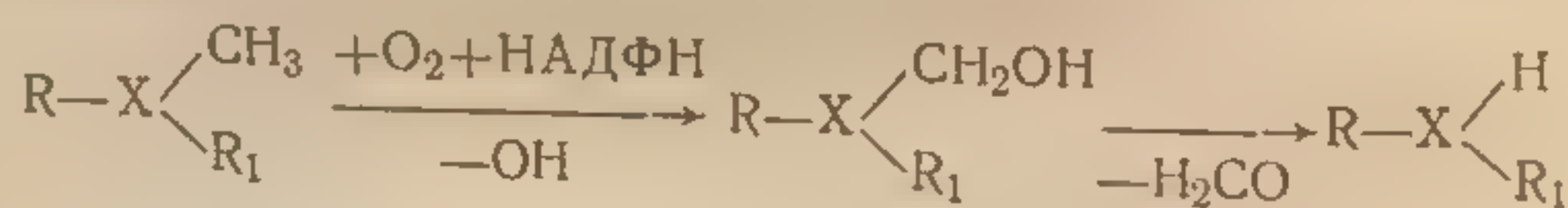




Основным путем метаболизма вторичных и третичных аминов является N-деметилирование с образованием в качестве конечных продуктов альдегида и соответствующего амина.

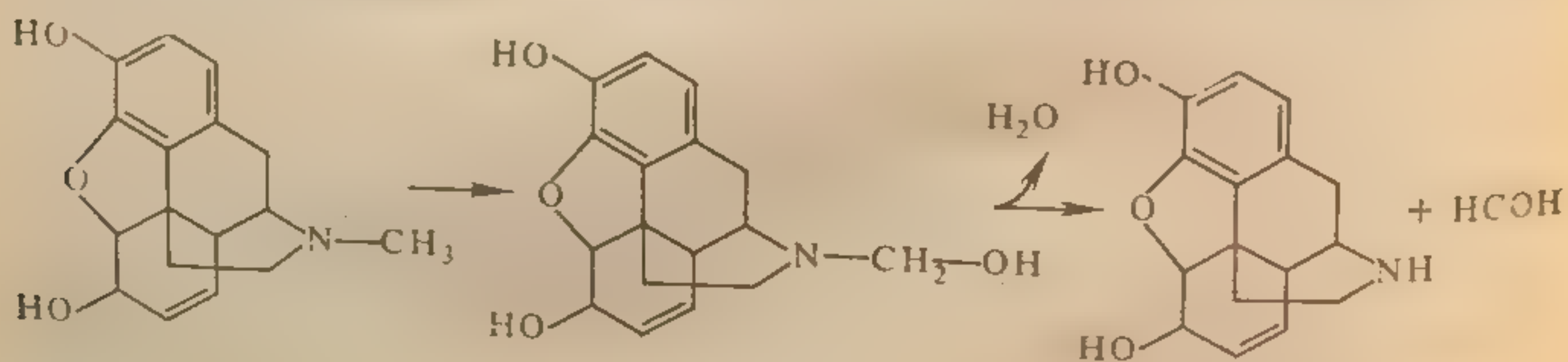
O- и N-деалкилирование — процессы, наиболее общие для многих лекарств и ядов, в результате которых фармакологическая активность веществ может либо уменьшаться, либо повышаться.

Эти процессы наиболее подробно изучены для O- и N-деметилирования наркотических веществ. Интенсивное изучение этих превращений было проведено Axelrod (1955—1960), который изучал N-деметилирование широкого ряда наркотических веществ, таких, как морфин, и других наркотиков. Впервые предположение о том, что для морфина одним из основных метаболических путей может быть N-деметилирование, было высказано, когда при введении морфина у людей и крыс в моче был обнаружен нормеперидин. Затем было установлено, что практически любой анальгетик подвержен в организме N-деметилированию. Наиболее интенсивно эти процессы протекают в печени, и особенно в микросомальной фракции, в присутствии НАДФН<sub>2</sub> и O<sub>2</sub>, хотя N-деметилирующая активность имеется и в других органах и фракциях, но значительно слабее, чем в микросомальной фракции печени. N-деалкилировать могут метиламфетамин, меперидин, метиланилин, диацетилморфин (героин), метадон, кодеин и другие вещества. Первоначально атмосферный кислород «атакует» углерод N-алкильной группы (C-окисление) с образованием N-оксиалкильного промежуточного продукта, который быстро разрушается с образованием формальдегида и амина. Скорость деметилирования аминов находится в прямой зависимости от способности их растворяться в липидах. Реакция деалкилирования по своему механизму является, по-видимому, реакцией гидроксилирования (А. И. Арчаков, 1975) и протекает по схеме



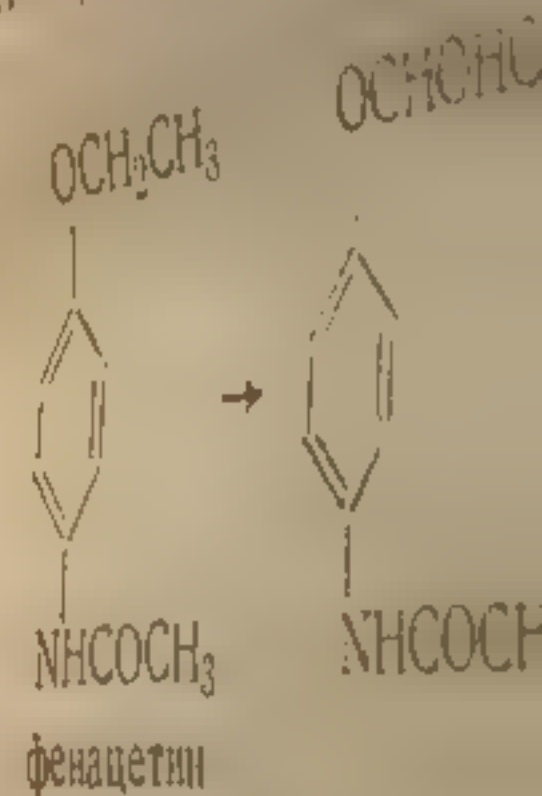
где X—N, S или O.

Ферментативное N- и O-деметилирование морфина и его производных протекает с образованием соответствующих норпроизводных и формальдегида:

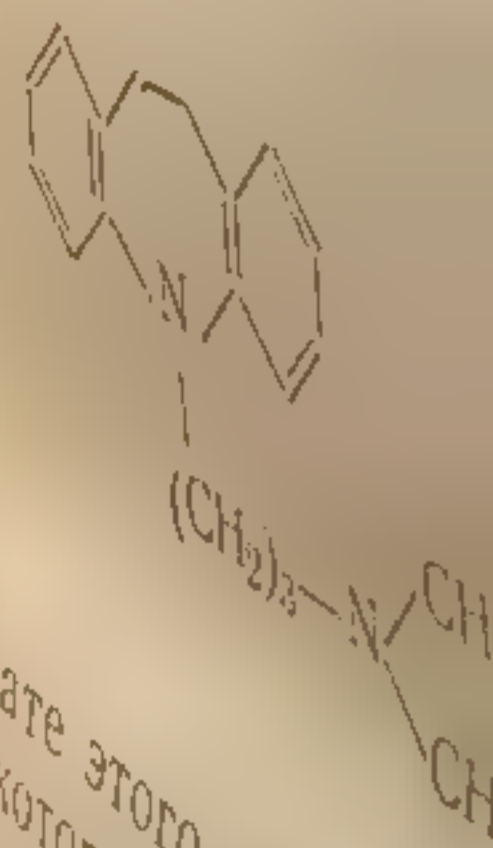


Как видно, промежуточная стадия включает гидроксилирование. Реакция требует восстановленных кофакторов и O<sub>2</sub> и осуществляется по механизму «оксидаз смешанного действия». Кислород, акти-

вводимый цитохром P-450 с образованием метаболитов, который распадается на формальдегид. Основные процессы метаболизма, близкие в микросомальной фракции печени к N-деметилированию, играют незначительную роль в метаболизме O-деалкилирование фенолов и N-ацетил-пара-аминофенола и



Анальгезирующее и жаропонижающее действие зависит от превращения его в морфин. О-Деметилирование применяют как самостоятельное средство при лечении парацетамола. Обезболивающее действие его в морфин. О-Деметилирование также папаверин, колхицин. Еще одним примером тако-го в организме этот антидепрессант является.



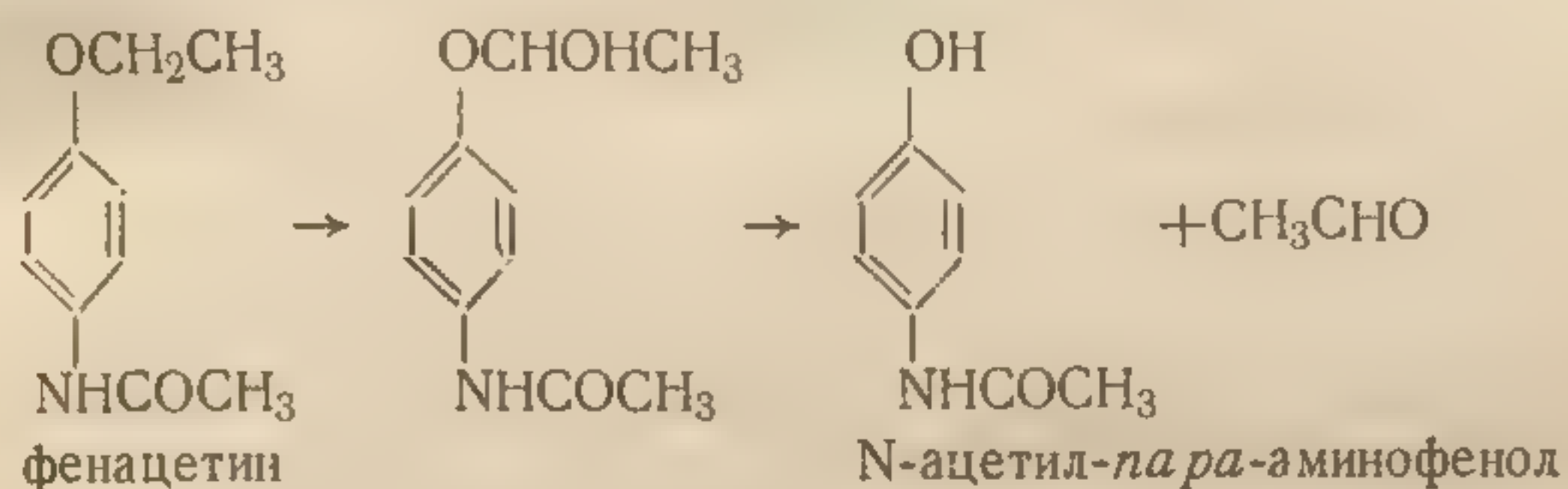
В результате этого деметилирования (тофран), который в клинике вызывает побочные действия, изучают их сравнительно недавно. При нормальном уровне активности к увеличению токсичности кодеина в 10 раз токсичнее кодеин. Деметилирование



вируемый цитохромом Р-450, гидроксилирует метильную группу с образованием нестабильного промежуточного метаболита, который распадается на соответствующий норметаболит и формальдегид.

Основные процессы метаболизма связаны с N-деметилением, однако в микросомах могут идти реакции N-деэтилирования, N-депропилирования, N-дебутилирования; но эти реакции играют незначительную роль в метаболизме ксенобиотиков.

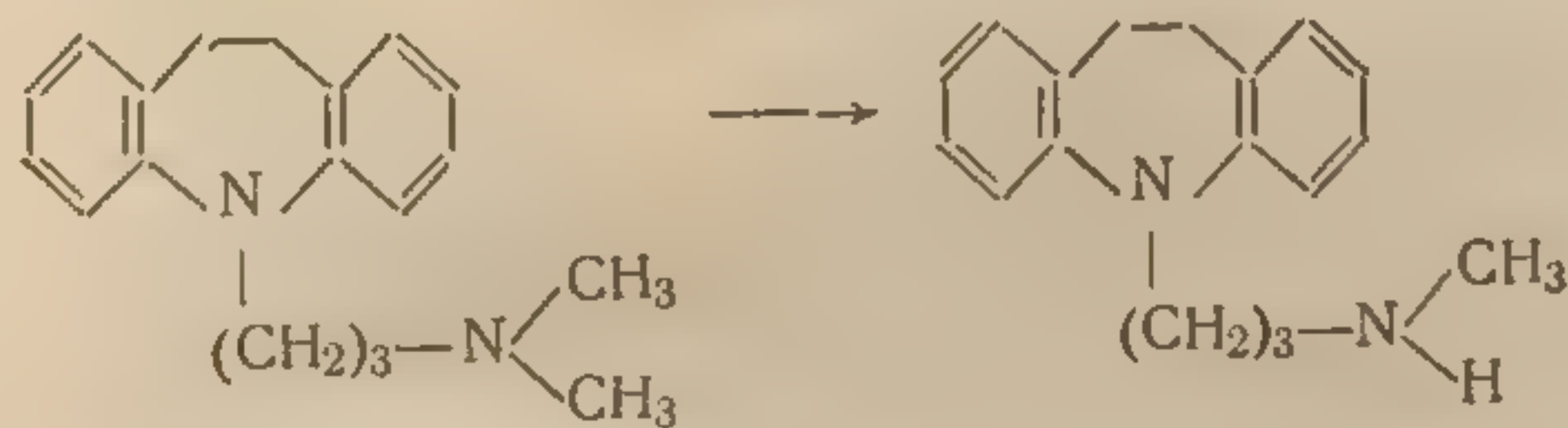
О-Дезалкилирование фенацетина приводит к образованию N-ацетил-пара-аминофенола и ацетальдегида:



Анальгезирующее и жаропонижающее действие фенацетина зависит от превращения его в N-ацетил-пара-аминофенол, который применяют как самостоятельное лекарственное средство под названием парацетамола.

Обезболивающее действие кодеина связано с деметилированием его в морфин. О-Деметилированию в микросомах печени подвергаются также папаверин, колхицин, мескалин и др.

Еще одним примером такого рода может служить психофармакологический препарат имипрамин, или тофранил. Известно, что в организме этот антидепрессант теряет одну метильную группу у атома азота:



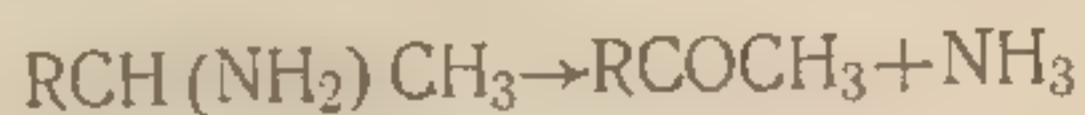
В результате этого деметилирования образуется дезипрамин (пертофран), который в клинике дает лучшие результаты и не оказывает побочного действия, свойственного имипрамину.

При сравнительном изучении токсических свойств наркотиков и их норметаболитов найдено, что деалкилирование приводит к увеличению токсичности последних, главным образом в отношении конвульсативной активности. Например, норкодеин оказался в шесть раз токсичнее кодеина и в два раза токсичнее морфина при одинаковых условиях введения.

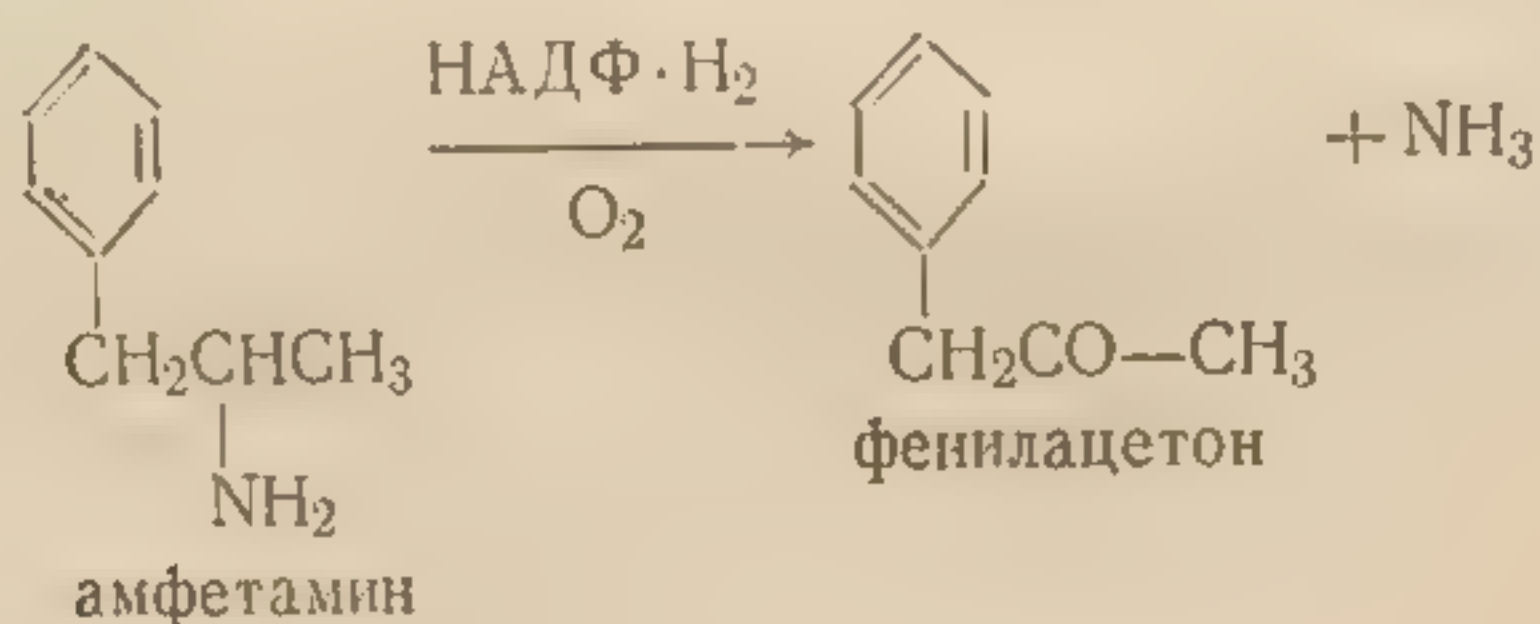
**Дезаминирование** характеризуется отщеплением аминогрупп от молекул фармакологических препаратов. Роль этого процесса



в организме трудно переоценить, так как дезаминирование приводит к полной потере биологической активности многих фармакологических препаратов:

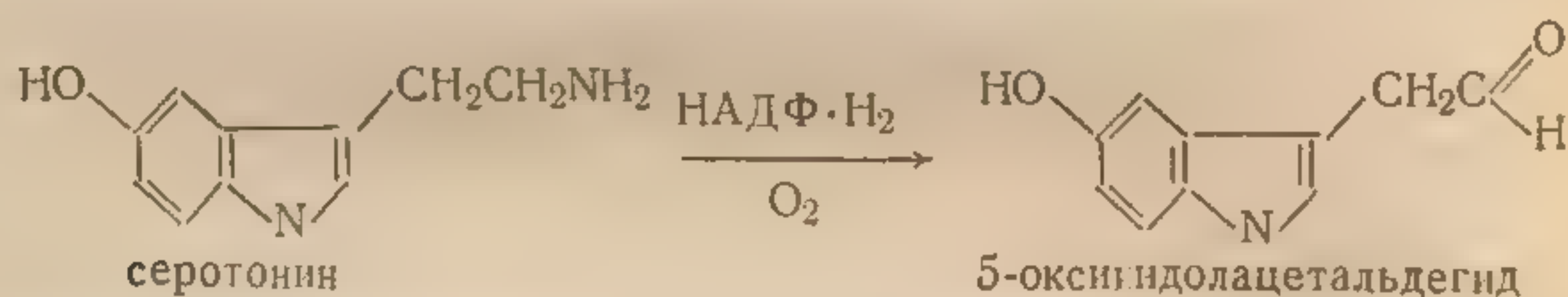


Микросомальная аминоксидаза, которая в присутствии НАДФН<sub>2</sub> и О<sub>2</sub> дезаминирует чужеродные амины, была найдена у многих животных, но особенно она активна у кроликов (Brodie et al., 1958). Этот фермент участвует в окислении аминокрупп лекарственных веществ, например:



Эта реакция индуцируется фенобарбиталом и протекает с участием цитохрома Р-450 и требует обязательного присутствия НАДФН<sub>2</sub>. Микросомальные ферменты дезаминируют метиламфетамин, амфетамин, эфедрин. *L*-Изомеры амфетамина и эфедрина метаболизируются гораздо быстрее, чем *D*-изомеры.

Окислительному дезаминированию в микросомах печени подвергаются также серотонин, гистамин, адреналин, норадреналин и др.:



На примере разобранных реакций можно сделать заключение, что в печени имеется достаточно полный набор ферментов, способных метаболизировать широкий круг лекарственных веществ и ядов, попавших в организм. Сущность этих реакций состоит в детоксикации, т. е. в изменении химической структуры и превращении чужеродных веществ из липидорастворимых в более водорастворимые, что способствует скорейшему выведению их из организма. Однако указанные реакции часто являются лишь начальной, первой фазой метаболизма.

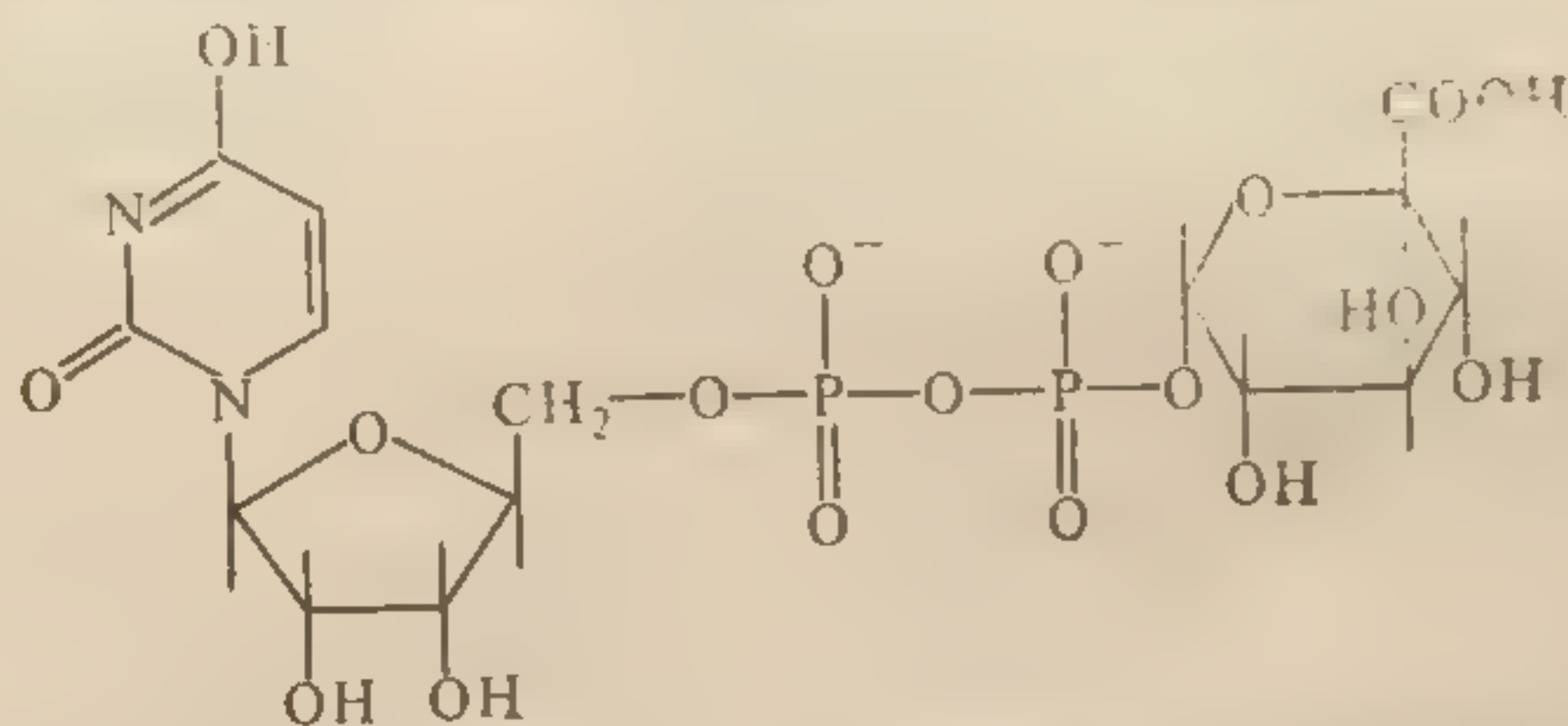
**Реакции конъюгаций.** Вторую фазу метаболизма — конъюгацию, можно отнести к реакциям синтеза, при помощи которых лекарственные вещества или их метаболиты соединяются с группировками эндогенных молекул (глюкуроновой или серной кислот, N-глюкозамином и др.). Этот процесс также приводит к увеличению полярности молекул и облегчает выведение их из организма с мочой. Указанные фазы биотрансформации веществ чаще всего сле-



дуют одна за другой, но могут идти раздельно как самостоятельные пути их метаболизма.

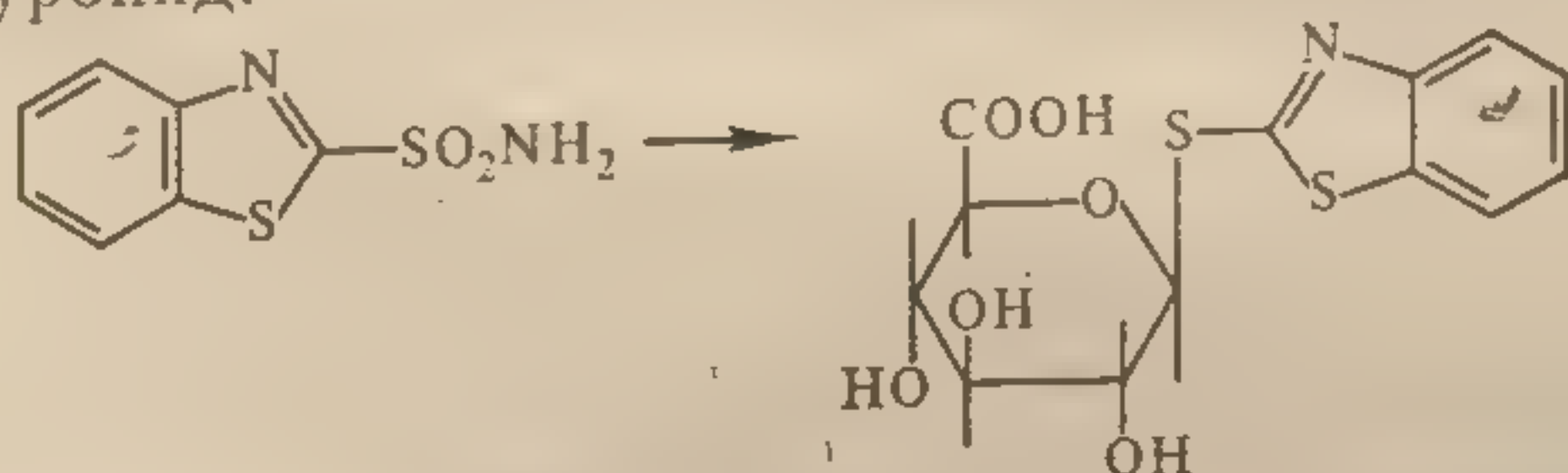
Конъюгация способствует детоксикации, так как в результате этого процесса происходят большие изменения в свойствах лекарства или яда. Двумя определяющими свойствами биологически активных молекул являются присущие им биохимическая активность и липидная растворимость. Первое свойство обычно зависит в большей степени от структуры; следовательно, конъюгация должна приводить к потере активности. Известно, что липидорастворимые вещества могут проходить через мембрану посредством пассивной диффузии. В результате же конъюгации формируются ионы, которые из-за своего заряда и объемных гидратных оболочек имеют иную мобильность в ткани.

Уридин-5-дифосфо-*D*-глюкуроновая кислота

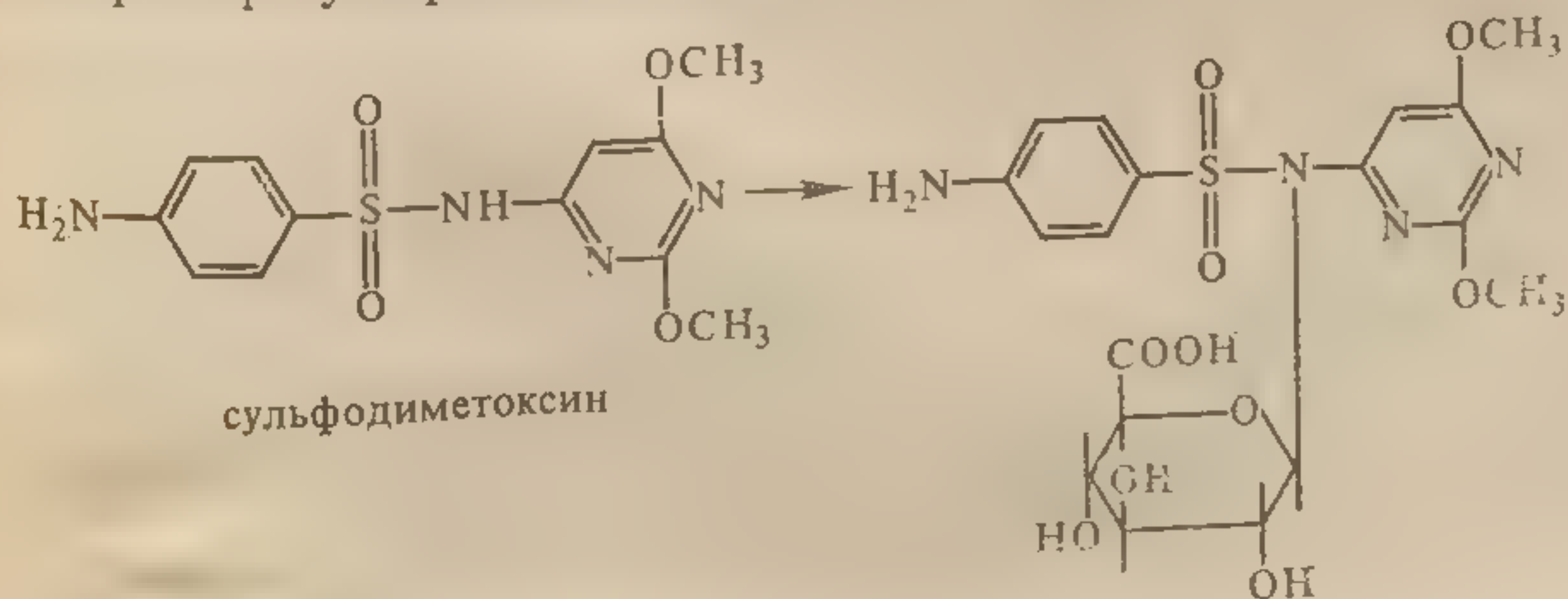


функционирует в качестве донора *D*-глюкопираниронильной группы для многих субстратов. Реакция катализируется рядом трансфераз.

Бензотиазол-2-сульфонамид экскретируется частично с мочой как *S*-глюкуронид:



*N*-Глюкурониды могут быть образованы из ароматических аминов, транквилизаторов, таких, как мепробамат, от вторичных аминов, например сульфаниламидов:





### § 3. Роль лекарственных веществ в изменении ферментативной активности метаболизирующей системы эндоплазматического ретикулума печени

Как было уже сказано, продолжительность и интенсивность действия многих лекарственных веществ зависит от скорости их метаболизма в эндоплазматическом ретикулуме печени. В то же время активность метаболизирующих ферментов зависит от диеты, колебания гормонального фона организма, действия фармакологически активных препаратов. При введении некоторых фармакопрепаратов активность ферментов метаболизма возрастает. Подобное увеличение активности многие исследователи связывают с возрастанием синтеза ферментативного белка, получившее название «ферментативной индукции».

Известно более сотни ксенобиотиков, увеличивающих активность гидроксилазной системы. К ним относятся различные лекарственные вещества, канцерогены, инсектициды и другие химические соединения. Индукция приводит к увеличению уровня цитохрома Р-450, повышению активности НАДФН-цитохром-С-редуктазы, ускорению метаболизма многих лекарственных веществ и т. д. Также отмечаются изменения обоих типов спектров, характеризующих процесс связывания лекарственных веществ микросомами. Причем увеличение содержания микросомального белка обусловлено не только его ускоренным синтезом, но и замедленным разрушением при введении индуктора.

При электронно-микроскопическом исследовании было найдено, что введение животным фенобарбитала, ДДТ, хлордана и других веществ дает значительную пролиферацию гладких мембран эндоплазматического ретикулума, ■ то же время реакция шероховатого ретикулума была незначительной.

Несмотря на то что не наблюдается интенсивной пролиферации шероховатого ретикулума, имеется повышение его ферментативной активности ■ первые часы после введения индуктора. Orrenius, Ernster (1964) показали, что после однократного введения фенобарбитала сначала увеличивается уровень N-деметилирования аминопирина, НАДФН-цитохром-С-редуктазы и цитохрома Р-450 в шероховатых мембранах ■ течение первых шести часов, затем между 6—12 часами после введения уровень ферментов снижается в шероховатом и увеличивается в гладком ретикулуме. Повторное введение фенобарбитала дает большую активность окисления лекарств в гладком ретикулуме. Подавление индукции гидроксилирующих ферментов актиномицином Д свидетельствует в пользу того, что индукция обусловлена образованием *de novo* м-РНК. При развитии толерантности к гексобарбиталу угнетение РНК-азной активности хорошо коррелирует с индукцией микросомальных ферментов, метаболизирующих лекарственные вещества. В связи с этим, как уже отмечалось, определенный интерес в стимуляции синтеза микросомальных ферментов барбитурами представляет не только усиление синтеза РНК, но и торможение ее распада (П. В. Сергеев и др., 1973).

При введении индукторов наблюдается увеличение также и цитохрома  $b_5$ , но уровень этого цитохрома увеличивается медленно и незначительно. Поэтому трудно провести корреляцию между увеличением цитохрома  $b_5$  и изменением гидроксилазной активности. В то же время происходит параллельное увеличение цитохрома Р-450 и интенсивности превращения лекарств.

Большинство изученных индукторов можно разделить на два типа: индукторы типа фенобарбитала и типа 3-метилхолантрена. Индукторы первого типа индуцируют большее количество путей метаболизма в эндоплазматическом ретикулуме печени (ароматическое гидроксилирование, алифатическое гидроксилирование, О- и N-деалкилирование и т. д.). В то же время индукторы типа 3-метилхолантрена индуцируют значительно меньше реакций.

N-Деметилирующая способность микросом из печени интактных и получивших фенобарбитал крыс ингибируется SKF-525A, в то время как ферменты микросом животных, получавших 3-метилхолантрен, сохраняют свою активность при воздействии данным препаратом. Это свидетельствует о различных механизмах индукции данными субстратами.

Определенный интерес представляет проблема субстратной специфичности системы гидроксилирования. Исследователей давно интересует вопрос — прини-



мают ли участие в гидроксилировании лекарственных веществ один и тот же цитохром Р-450 или же существуют различные виды цитохрома Р-450, каждый из которых специфичен для данного соединения или группы соединений. Если правомерным оказывается второе предположение, то возникает новый вопрос, восстанавливаются ли различные виды цитохрома Р-450 одной общей НАДФН-цитохром-Р-450-редуктазой или же каждый вид имеет свою редуктазу.

Как уже было сказано, полициклические гидрокарбонны действуют более селективно на активность ферментативной системы, метаболизирующей лекарства. Так, 3-метилхолантрен по сравнению с фенобарбиталом увеличивает метаболизм меньшего числа субстратов, а уровень НАДФН-цитохром-С-редуктазы остается неизменным.

Тщательное изучение спектров связывания цитохрома с СО показало, что абсорбционный максимум у крыс, получавших фенобарбитал, идентичен спектру контрольных крыс — 450 нм, в то время как введение 3-метилхолантрена приводит к сдвигу спектра в область 448 нм.

В последнее время в литературе появились работы, позволяющие допустить существование трех и более типов цитохрома Р-450 (Welton, Aust, 1974).

Было показано, что различные фармакологические агенты конкурентно ингибируют гидроксилирование друг друга, будучи добавленными к микросомам печени, инкубационная среда которых содержала избыток НАДФН и кислорода.

По мнению Oggenius (1971), этот факт объясняет широко известное положение о потенцировании действия фармакологических препаратов. Подобное взаимодействие может иметь место между лекарствами и эндогенными субстратами системы гидроксилирования, как, например, со стероидными гормонами.

В результате индукции микросомальных ферментов под действием фенобарбитала в печени животных возрастает биотрансформация тестостерона, эстрадиола, прогестерона, кортизола и альдостерона в полярные метаболиты. При одновременном введении фенобарбитала и гормонов, несмотря на активацию микросомальных ферментов, метаболизм гормонов *in vivo* подавляется. Если же гормон вводится через определенное время после инъекции фенобарбитала, то его биотрансформация значительно превышает контрольный уровень. Из этого следует, что повышенная способность микросомальных ферментов печени трансформировать стероидные гормоны реализуется только после того, как метаболизирована значительная часть индуктора, и что причиной этому является конкурентное взаимодействие фенобарбитала и гормонов в системе гидроксилирования.

Итак, из сказанного ясно, что лекарственные вещества не только метаболизируются микросомами печени, но и играют существенную роль в изменении ферментативной активности систем, метаболизирующих ксенобиотики.

Процессы биотрансформации лекарственных веществ в эндоплазматическом ретикулуле клеток печени играют определенную роль при химиотерапии. Следовательно, от активности микросомальных ферментов зависит судьба циркулирующих в организме препаратов и их метаболитов. В свою очередь, действие лекарств тесно связано с особенностями их химической структуры: даже незначительные вариации в структуре и функциональных заместителях приводят к существенному изменению биологической активности молекул. Химическая структура лекарственных веществ определяет физико-химические свойства молекул: их основность, полярность, гидрофобность, липофильность, поверхностную активность и др.

Эти свойства, как известно, влияют на процессы всасывания, транспорта, распределения веществ в тканях организма, ассоциацию с рецепторными молекулами и т. п.

Таким образом, необходимо изучать трансформацию лекарственных препаратов в организме, так как знание этого позволяет более эффективно применять их при лечении различных патологических состояний.



## ГЛАВА 2

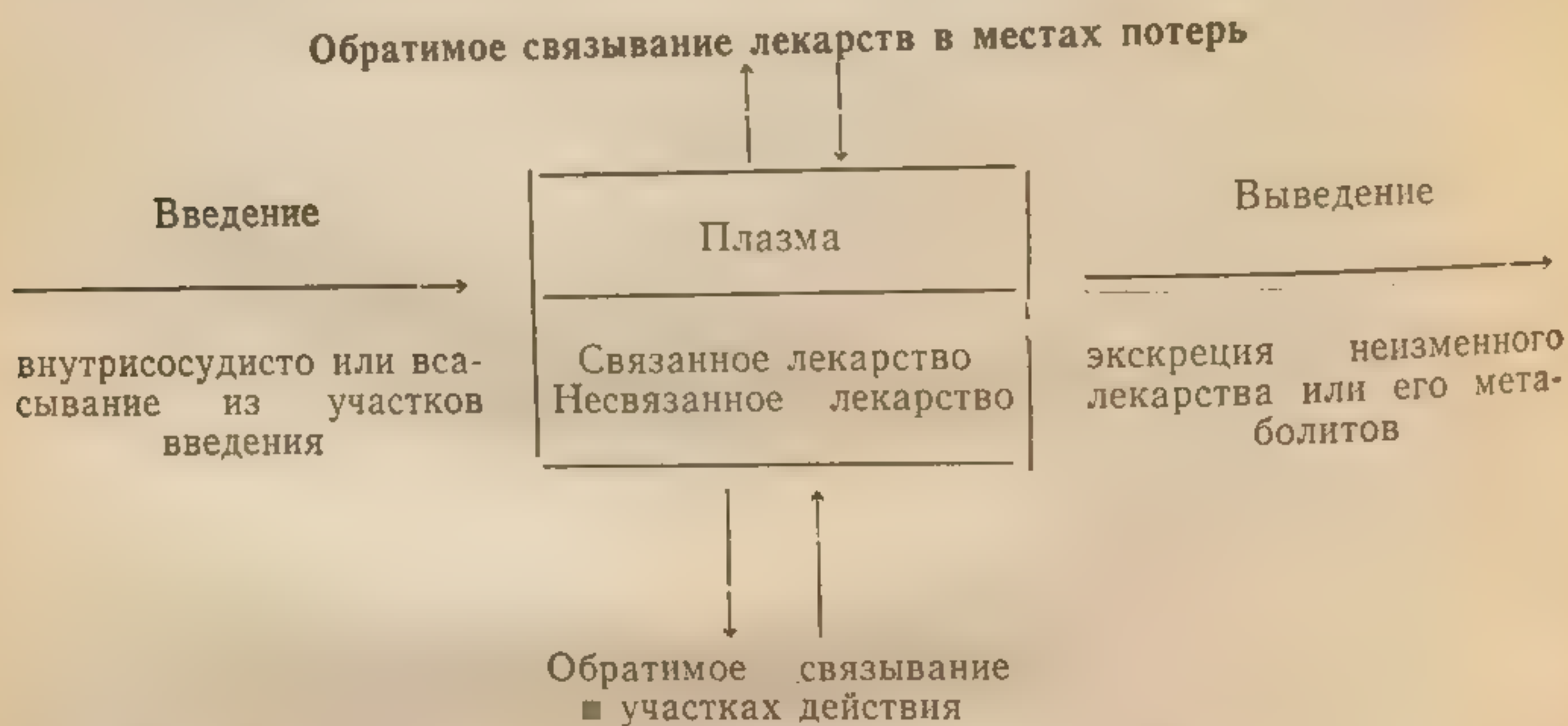
### ТРАНСПОРТНЫЕ СИСТЕМЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ И ХИМИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ ИХ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ

Как известно, различные низкомолекулярные биологически активные вещества распространяются в организме, достигая мест своего действия и органов выделения с помощью кровотока.

Циркуляция транспортируемого вещества в крови создает условия для его системного действия, причем длительность этого действия часто коррелирует с продолжительностью присутствия препарата в русле крови.

Транспортные функции сывороточного альбумина, о которых указывалось уже 140 лет назад (Ansell, 1839—1840), а также

Схема 2



других белков плазмы и форменных элементов крови все еще изучены недостаточно, но вследствие исключительного прикладного значения привлекают все больше внимания. Данные о фармакокинетике лекарств необходимы для разработки оптимальных схем дозирования лекарств (пути введения; начальная, поддерживающая, курсовая дозы, интервал между дозами) и для поиска новых препаратов с желаемыми закономерностями распределения.

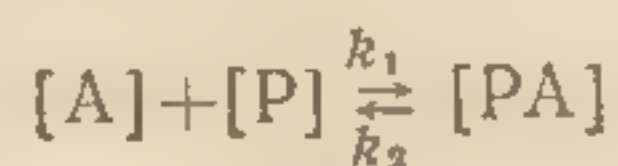
Анализ литературных данных показывает, что характер взаимодействия низкомолекулярных соединений с транспортными системами крови определяет их фармакологическую активность и селективное накопление в том или ином органе. Ключевая роль связывания белками плазмы лекарств при определении их фармакокинетики в организме представлена на схеме 2 (по Curry, 1974).

В данной главе будут рассмотрены некоторые общие вопросы физико-химических аспектов комплексообразования лигандов с биомакромолекулами, молекулярные механизмы взаимодействия физиологически активных веществ с транспортными системами крови, а также значение такого взаимодействия для кинетики выделения низкомолекулярных соединений из организма.



## § 1. Физико-химические аспекты комплексобразования низкомолекулярных веществ с биомacroмолекулами

Обычно взаимодействие лекарства (лиганда) с любым белком рассматривается как обратимая реакция, подчиняющаяся закону действия масс:



где  $k_1$  и  $k_2$  — соответственно константы скорости ассоциации и диссоциации комплексов;  $[A]$  — концентрация несвязанного лиганда;  $[P]$  — концентрация белка. Количественно сила взаимодействия или сродство лиганда к белку выражается с помощью равновесной константы ассоциации ( $K_a$ ):

$$\frac{[PA]}{[A][P]} = \frac{k_1}{k_2} = K_a.$$

Часто пользуются обратной величиной  $K_a$  — равновесной константой диссоциации  $K_d$ .  $K_d$  соответствует свободной концентрации лиганда, при которой 50% связывающих участков белка заполнено. Чем больше сродство лиганда к белку, тем больше будет  $K_a$  и меньше  $K_d$ .

Предполагая отсутствие взаимодействия между несколькими связывающими участками белка, закон действия масс можно выразить следующим образом:

$$r = nK_a[A]/(1 + K_a[A]),$$

где  $r$  — количество молей связанного лиганда на моль белка;

$n$  — общее количество связывающих участков.

Используя это уравнение в линейной форме:

$$1/r = 1/n + (1/n \cdot K_a)(1/[A])$$

или

$$r = n - (1/K)(r/[A]),$$

графически можно получить значения  $K_a$  и  $n$ . Однако в случае наличия кооперативного взаимодействия между различными связывающими участками эти формулы дают лишь приближенные сведения о параметрах связывания. Адекватной математической модели, описывающей комплексобразование любой биомacroмолекулы с любым лигандом, нет; интенсивные поиски в этом направлении продолжаются.

В образовании комплекса белка с лигандом могут принимать участие те же 4 типа нековалентных взаимодействий, что и в формировании пространственной структуры белка в водном растворе: 1) водородная связь; 2) электростатическая связь; 3) вандерваальсова связь; 4) гидрофобные взаимодействия.

Как правило, в образовании того или иного комплекса молекул-партнеров принимают участие различные виды связей; одна-



ко считают, что специфичность комплексообразования обусловлена короткодействующими вандерваальсовыми силами.

Зная величину  $K_a$ , с помощью термодинамических уравнений (см. с. 18) можно рассчитать  $\Delta G^0$ , а если известна зависимость  $K_a$  от температуры, — энтальпию  $\Delta H^0$  и энтропию  $\Delta S^0$  связыва-

ния. Теоретически и экспериментально показано, что основной движущей силой электростатических и гидрофобных взаимодействий является изменение энтропии (Klotz, 1973).

Для определения параметров связывания лекарств с белками обычно пользуются классическими методами: равновесным диализом или ультрафильтрацией. Применение спектральных методов исследования (ЭПР, ЯМР, спектрофотометрия, инфракрасная спектроскопия, спектрополяриметрия, Раман-спектроскопия, спектрофлуориметрия и др.) позволяет получить дополнительную информацию о молекулярных механизмах взаимодействия и динамике комплексообразования (Chignell, 1973).

Величина свободной фракции лекарства зависит от его сродства к белку ( $K_a$ ) и от концентрации взаимодействующих молекул-партнеров. Эта зависимость для гипотетического лекарства с молекулярной массой 300 представлена

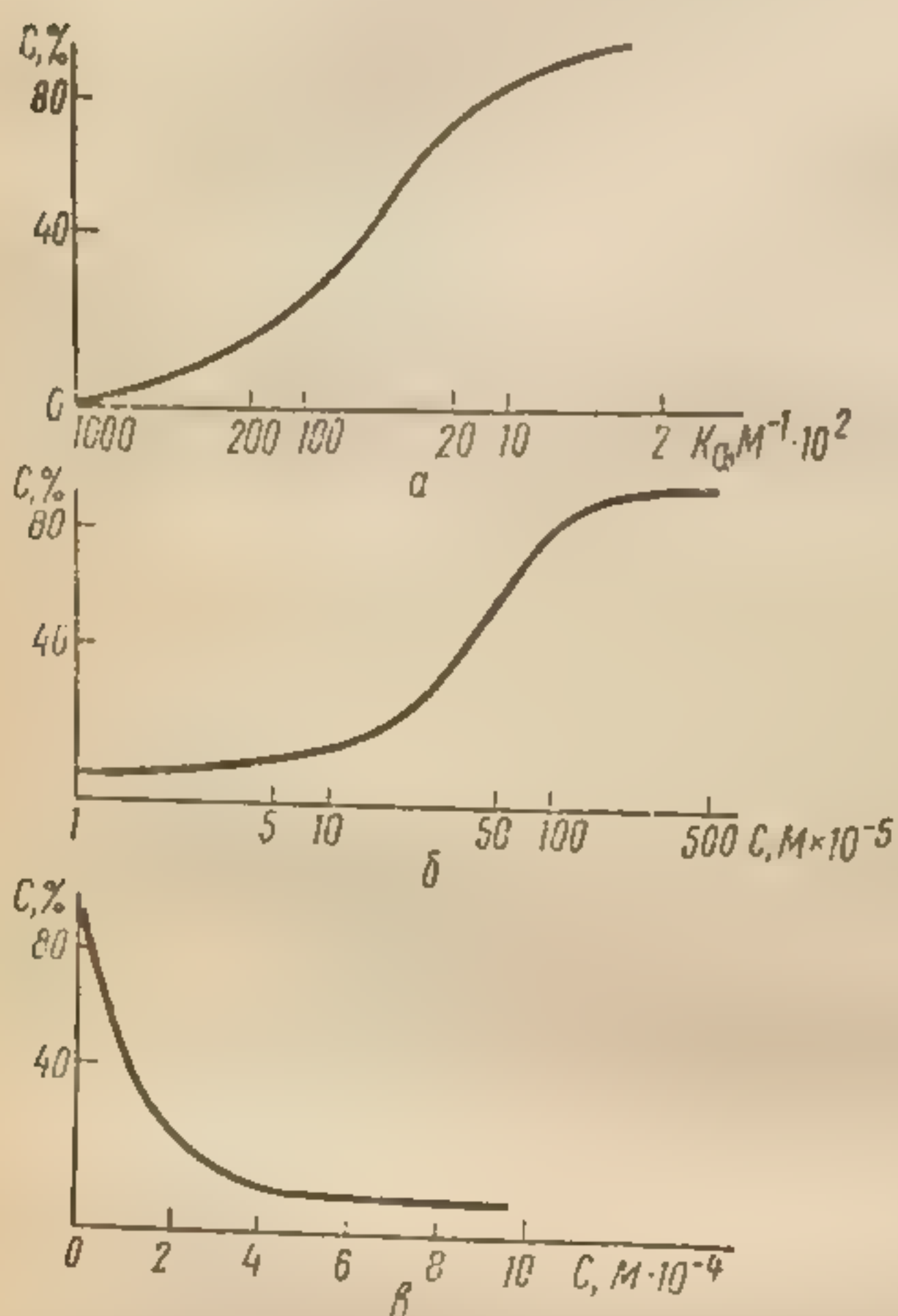


Рис. 3. Влияние на связывание альбумином лекарств константы ассоциации (а); общей концентрации лекарства (б); концентрации альбумина (в) (Koch Weser и Sellers, 1976):

по оси абсцисс — константа ассоциации (а); общая концентрация лекарства (б); концентрация альбумина (в); по оси ординат — концентрация несвязанного лекарства, %

на рис. 3. Следовательно, зная параметры связывания, объем распределения свободной фракции лекарства и общие концентрации лекарства и белка, всегда можно предсказать величину свободной, а значит, и биологически активной фракции данного лекарства.

## § 2. Специфические транспортные системы крови

В процессе эволюции были созданы как специфические, так и неспецифические транспортные системы крови. К первым можно отнести глобулины сыворотки, которые связывают и переносят многие эндогенные физиологически активные соединения. Тирок-



син, например, образует специфический комплекс с тироксинсвязывающим глобулином; кортизол, кортикостерон и прогестерон — с транскортином; тестостерон и эстрадиол — с секс-стероидсвязывающим глобулином; ионы железа — с трансферинном, а меди — с церулоплазмином; гем — с гемопексином; глобин — с гаптоглобином.

Гистамин проявляет значительное сродство к глобулинам, на чем основано гистаминопектическое действие сыворотки (В. Н. Успенский, 1963).

Мало данных имеется о характере транспорта витаминов в крови. Витамин D транспортируется в крови не в свободном состоянии, а в связанной форме с сывороточными белками (глобулинами). Предполагают (П. В. Сергеев и др., 1974), что высокая устойчивость связи витамина D с белками сыворотки предохраняет его молекулу от метаболических деградаций и выполняет важную роль в транспорте витамина D и его метаболитов к специфическим рецепторным молекулам органов-мишеней, что в конечном счете является необходимым условием для проявления нормального физиологического эффекта. По-видимому, следует полагать, что такое же большое биологическое значение имеет связь с белками сыворотки витаминов A, B<sub>6</sub> и B<sub>12</sub> (Raune, 1966). По мнению этого же автора, витамин B<sub>2</sub> в основном связывается с эритроцитами и лейкоцитами; витамин C — лейкоцитами; в РР — эритроцитами; витамин E примерно одинаково распределяется между плазмой и форменными элементами крови.

Липопротейны (среди которых выделяют хиломикроны, пре-β-лиipoprotein, α- и β-лиipoprotein) связывают триглицериды, фосфолипиды, холестерин и жирные кислоты.

Несомненный интерес представляет взаимодействие пептидных гормонов с составными компонентами крови. А. К. Старосельцева (1976) отмечает, что существуют две фракции, связывающие инсулин, которые располагаются в области трансферина и α-глобулинов, возможно, в области оразомукоида. Связь инсулина с трансферинном оказалась более прочной (в образовании этого комплекса большую роль играет сиаловая кислота), связь с оразомукоидом — более слабая, так как она распадается при голодании и изменяется при нагрузке глюкозой. Предполагается, что эта последняя форма инсулина принимает участие в поддержании определенного уровня биологически активного инсулина, в то время как первая, связанная с трансферинном, важна для доставки инсулина к жировой ткани.

Нарушение метаболизма глюкозы при уремии Lutz (1975) объясняет образование прочного комплекса инсулина с одним из четырех основных пептидов крови (молекулярная масса 1300). В норме этот пептид связан с сывороточным альбумином и не может ингибировать активность инсулина.

Среди других специфических транспортных систем крови необходимо упомянуть о тромбоцитах, которые имеют специфические рецепторы для серотонина (П. В. Сергеев и др., 1974). Со-



держание данного биогенного амина в тромбоцитах в 1000 раз превышает его концентрацию в плазме.

Таким образом, из приведенных данных следует, что связывание транспортными системами крови гормонов, витаминов и других эндогенных молекул влияет на их утилизацию в периферических тканях и создает их определенный резерв в русле крови. В то же время нужно подчеркнуть, что необходимы дальнейшие исследования природы связей этих эндогенных физиологически активных соединений со специфическими транспортными системами крови, чтобы более глубоко и полно раскрыть биологическую сущность данного явления.

### § 3. Сывороточный альбумин — основной представитель неспецифических транспортных систем крови

Поскольку сывороточный альбумин обладает универсальной способностью связывать практически все экзогенные и эндогенные низкомолекулярные агенты, считается, что этот белок — основной представитель неспецифических транспортных систем крови. По-видимому, это обусловлено структурными особенностями альбумина, ■ именно чрезвычайной способностью изменять свою конформацию и наибольшим объемом гидрофобных областей относительно объема белковой глобулы по сравнению с другими белками (В. Н. Измайлова и П. А. Ребиндер, 1974).

В молекуле сывороточного альбумина человека 109 катионных и 120 анионных аминокислотных остатков; при pH 7,4 альбумин имеет отрицательный заряд. Тем не менее сывороточный альбумин преимущественно связывает анионы, ■ не катионы. Клотц (1956) и Юз (1958) полагают, что данный феномен обусловлен следующими причинами: 1) катионные центры ■ отличие от анионных на поверхности альбумина окружены неполярными областями, что снижает эффективную диэлектрическую постоянную среды и усиливает электростатические взаимодействия; 2) ОН-группы белковой цепи могут образовывать водородные связи с аминокислотными остатками, которые содержат группы  $\text{COO}^-$  и  $\text{NH}^+$ . Из данных об энергии водородной связи и рентгеноструктурных исследований треонина вытекает, что более выгодным является образование связи  $\text{OH} \cdots \text{OOC}$ . Поскольку в альбумине ОН-групп недостаточно, чтобы образовывать водородные связи со всеми  $\text{COO}^-$  и  $\text{NH}^+$ -группами, структура белка должна иметь небольшую жесткость, и  $\text{NH}^+$ -группы остаются ■ относительно открытом положении, доступном для связывания отрицательно заряженных лигандов.

Считается, что при связывании лекарств с альбумином электростатические силы относительно слабы, однако они важны для сближения молекул и соответствующей их ориентации. Комплекс будет тем прочнее, чем больше будет образовываться водородных и вандерваальсовых связей различных частей лиганда с аминокислотными остатками белка, которые образуют связывающий участок. Единственная SH-группа сывороточного альбумина является донором электронов и может образовывать с различными акцепторами комплексы с переносом заряда. Факт, что ацетилсалициловая

| Лекарство  | Связываемость, % |
|--|------------------|
| Бисенноксикамарин  | 0,2              |
| Варфарин   | 3                |
| Диклоксациллин   | 2                |
| Клоксациллин   | 5                |
| Доксицилин   | 7                |
| Нафтилин   | 10               |
| Сульфадимитоксин   | 10               |
| Сульфизоксазол   | 16               |
| Глобулин   | 1                |
| Азоридамид   | 4                |
| Толзамид   | 6                |
| Пробенид   | 1                |
| Фуросемид  | 3                |
| Хлорталид  | 5                |
| Нортриптилин   | 6                |
| Дексаметазон   | 8                |
| Металон  | 9                |
| Тиазид   | 13               |
| Вещества, взаимодействующие с альбумином, вызывают структурные изменения | 13               |



кислота по механизму трансацетилирования ковалентно связывается с  $\epsilon$ -аминогруппой лизина-199, свидетельствует о возможности необратимого связывания альбумином некоторых лигандов.

В связи с тем, что связывание альбумином лигандов усиливается с увеличением липофильности последних, существование и важность гидрофобных взаимодействий не вызывает сомнения.

Неспецифический характер связывания лекарств альбумином не следует понимать так, будто комплексообразование не зависит от структуры лиганда. Очень часто такая зависимость имеется; иногда введение полярных групп даже усиливает сродство лиганда к альбумину, а для бензодиазепинов и триптофана взаимодействие с сывороточным альбумином стереоспецифично. Высоко специфические комплексы характеризуются  $K_a > 10^8 \text{ M}^{-1}$ , и небольшие изменения в структуре лиганда приводят к уменьшению  $K_a$  на несколько порядков. Что касается сывороточного альбумина, то он, по данным Spector et al (1973), связывает достаточно сильно жирные кислоты и билирубин ( $K_a = 10^7 \div 10^8 \text{ M}^{-1}$ ). Другие низкомолекулярные вещества, для которых определяли параметры связывания, взаимодействуют с альбумином с  $K_a$  около или ниже  $10^6 \text{ M}^{-1}$ .

Ниже перечислены лекарственные вещества, которые при введении в организм в терапевтических дозах более чем на 80% связываются сывороткой, содержащей физиологическую концентрацию сывороточного альбумина (Koch. Weser Sellers, 1976):

| Лекарство        | Свободная фракция, % | Лекарство           | Свободная фракция, % |
|------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| Бишоноксикумарин | 0,2                  | Фенопрофен          | 1                    |
| Варфарин         | 3                    | Фенилбутазон        | 1                    |
| Диклоксацилин    | 2                    | Индометацин         | 3                    |
| Клоксацилин      | 5                    | Оксифенилбутазон    | 5                    |
| Доксицилин       | 7                    | Салицилат Na        | 16                   |
| Нафцилин         | 10                   | Пропранолол         | 6                    |
| Сульфадимитоксин | 10                   | Диазоксид           | 9                    |
| Сульфизоксазол   | 16                   | Дигитоксин          | 10                   |
| Толбутамид       | 1                    | Хинидин*            | 11                   |
| Хлорпропамид     | 4                    | Диазепам            | 1                    |
| Толзамид         | 6                    | Амитриптилин        | 4                    |
| Пробеницид       | 1                    | Имипрамин           | 4                    |
| Фуросемид        | 3                    | Хлорпромазин        | 4                    |
| Хлортиазид       | 5                    | Хлордиазепоксид     | 5                    |
| Нортриптилин     | 6                    | Сульфинпиразон      | 5                    |
| Дезипрамин       | 8                    | Трихлорметназид     | 8                    |
| Фенитоин         | 9                    | Этакриновая кислота | 10                   |
| Метадон*         | 13                   | Метотрексат         | 6                    |
| Тиопентал        | 13                   | Клофибрат           | 10                   |

Вещества, взаимодействующие с альбумином с  $K_a$  больше  $10^4 \text{ M}^{-1}$ , вызывают структурные изменения в молекуле белка, ре-

\* За исключением хинидина и метадона, остальные лекарства практически целиком связываются только с сывороточным альбумином.

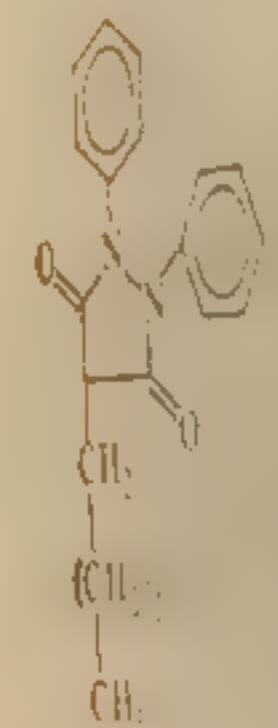
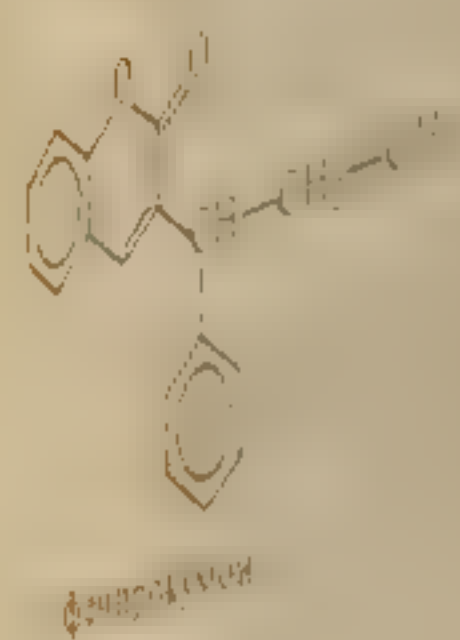


хистрируемые чувствительными методами. Так, стероиды обуславливают следующие эффекты: разрыхление белковой матрицы в районе локализации спиновых меток, при этом конформационные переходы осуществляются по аллостерическому механизму, подобно трансглобулярным переходам, наблюдавшимся при специфических воздействиях на ферменты; уменьшение микровязкости водно-белкового слоя в местах расположения иминоксильных радикалов (П. В. Сергеев и др., 1976) и изменение микроокружения единственного триптофанового остатка альбумина (Romeu и др., 1975). Методом флуоресцентных зондов обнаружено, что рентгеноконтрастные вещества (билигност, трийотраст, эндографин) вызывают конформационные изменения сывороточного альбумина человека, которые характеризуются увеличением расстояний на 2—6 Å между каждыми двумя из трех участков белка (триптофан, гистидин, SH-группа) и изменением микроструктуры водно-белкового слоя в районе локализации триптофанового остатка.

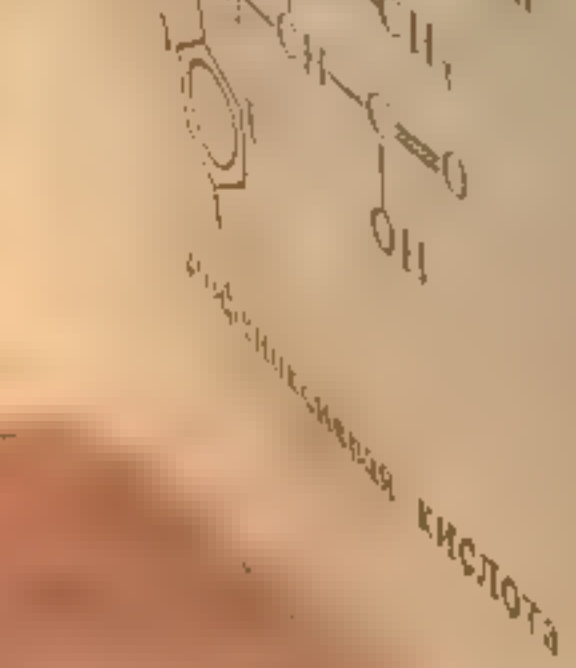
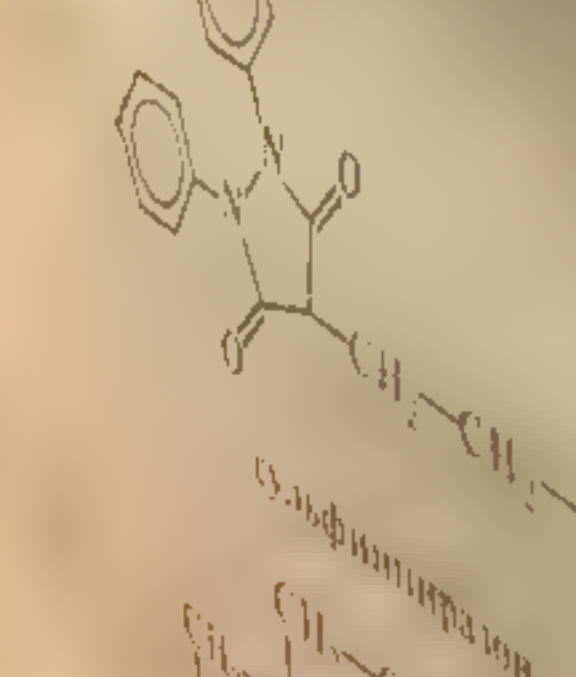
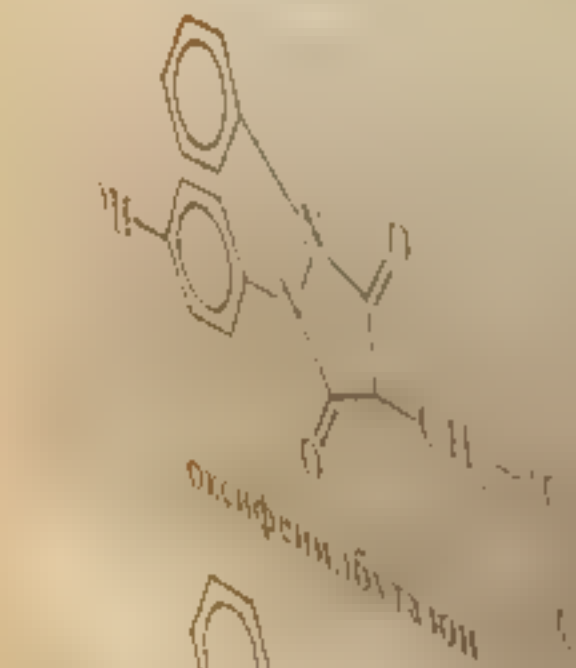
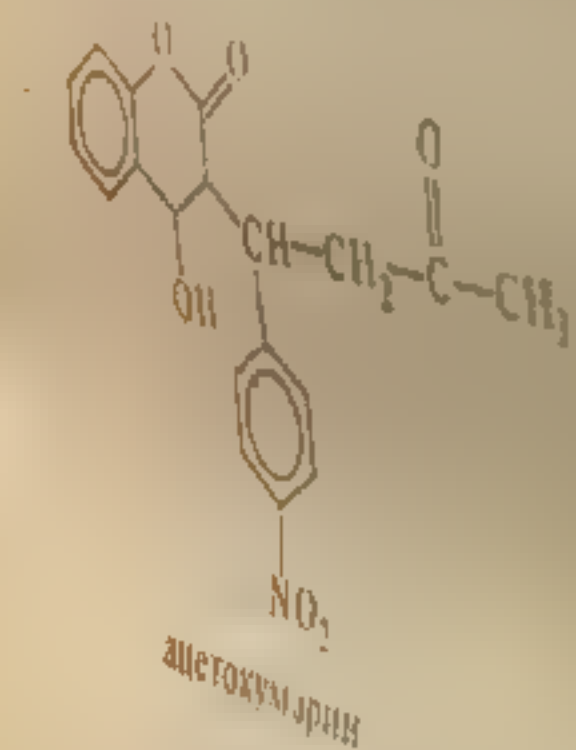
Конформационные перестройки альбумина выявлены также при связывании фенилбутазона, варфарина, флуфенаминовой кислоты, оксифенилбутазона, имипрамина, дезметилимипрамина, флуфеназина, иопаноата и иофеноксоата, сурамина, жирных кислот, бромсульфалеина пенициллинов, антиревматических препаратов, тироксина, наркотических анальгетиков. По всей вероятности, такие воздействия лекарственных веществ на структуру альбумина имеют определенное значение в генезе аллергических заболеваний.

Обычно для низкомолекулярных веществ на поверхности альбумина существует несколько или один сильносвязывающий участок ( $K_a = 10^4 \div 10^6 \text{ M}^{-1}$ ) и множество слабосвязывающих участков ( $K_a < 10^3 \text{ M}^{-1}$ ). Согласно ряду работ, для многих анионных лигандов сильносвязывающий участок расположен вблизи триптофанового остатка. Это справедливо для тестостерона, кортизола, клофибрата, производных гомопиримидазола, бромсульфалеина, билигнosta, трийотраста, эндографина. Способность ацетилсалициловой кислоты связываться с альбумином позволила Walker J. E. (1976) с помощью расщепления по Эдману установить пептид, с которым связывается это вещество: —лей—лиз—цис—ала—сер—лей—гли—лиз. Интересно отметить, что ацетилирование аспирином макромолекулы альбумина приводит к изменению сродства этого сильносвязывающего участка для некоторых лигандов. Так, например, связывание трийотраста и фенилбутазона увеличивается, а флуфенаминовой кислоты уменьшается. Считают, что связывающий участок альбумина, содержащий триптофановый остаток, состоит из двух частей: гидрофобного «кармана» (или полости), образованного боковыми цепями неполярных аминокислотных остатков, и катионного центра, расположенного в этой полости или вблизи нее.

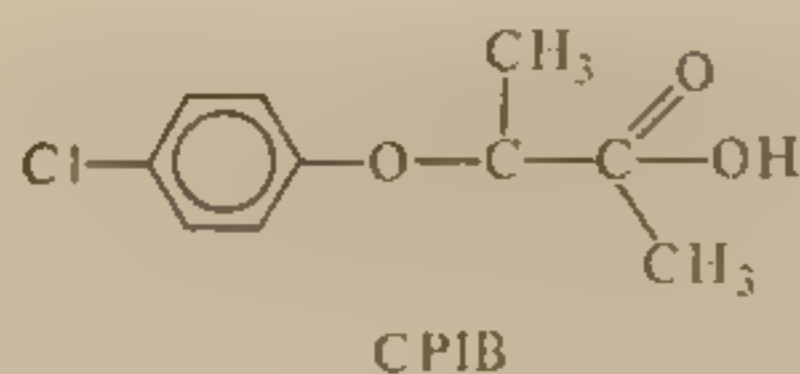
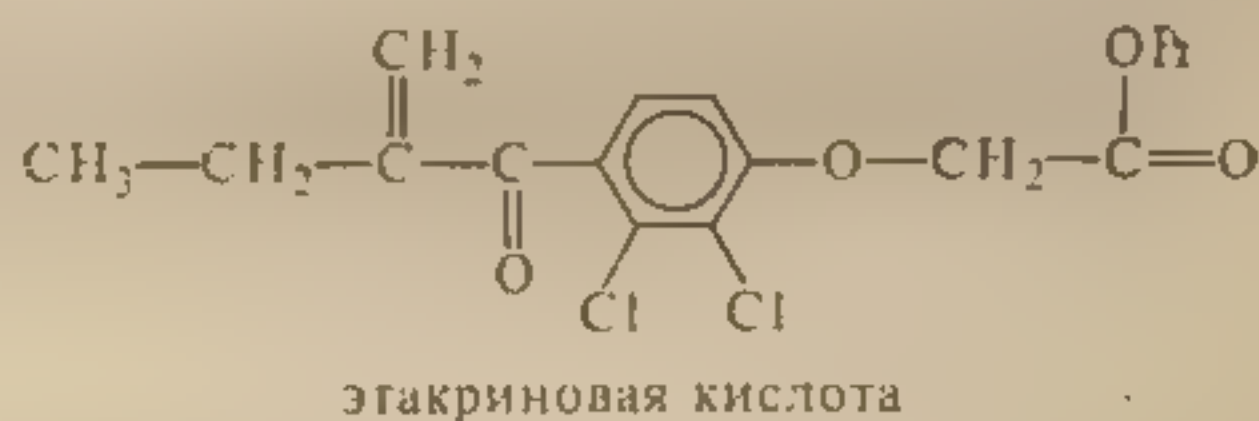
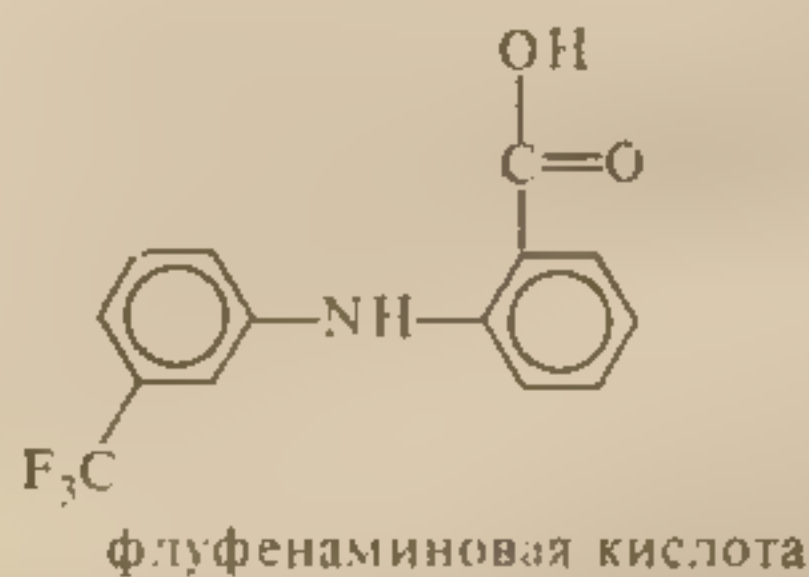
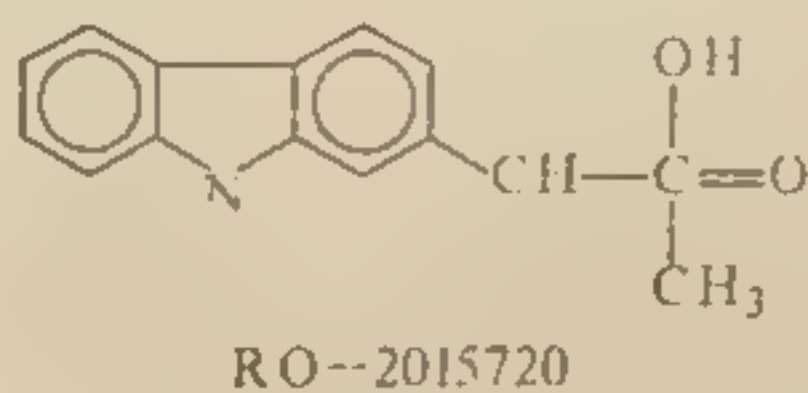
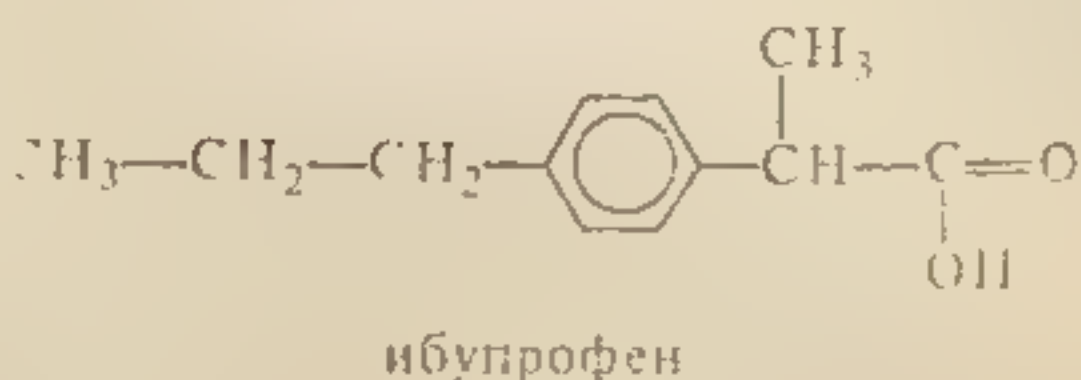
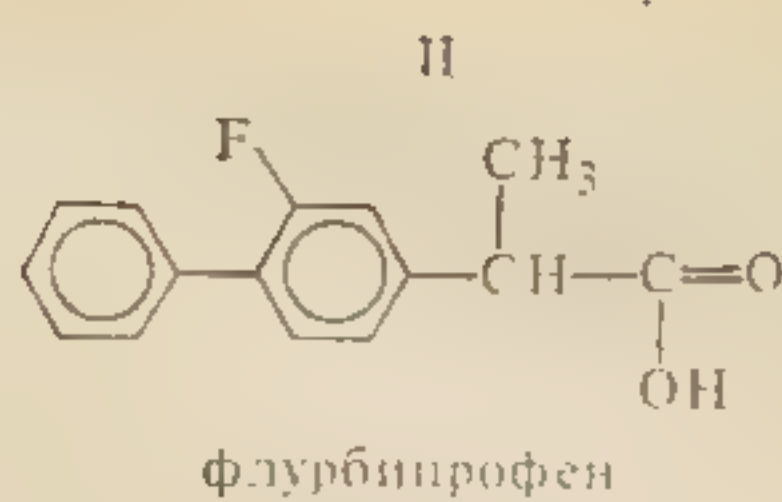
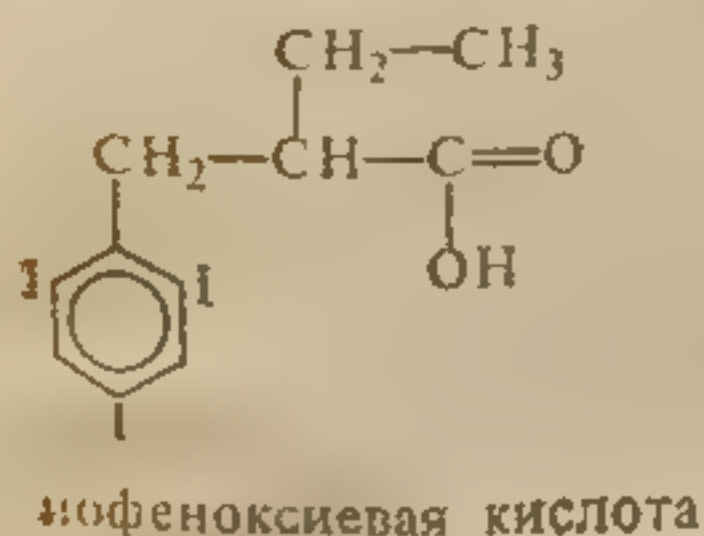
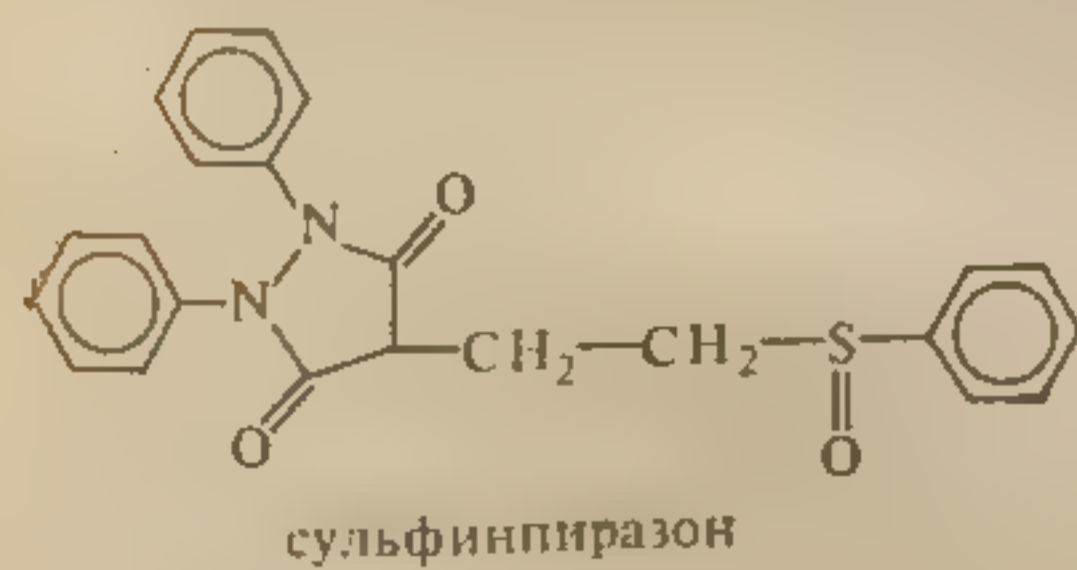
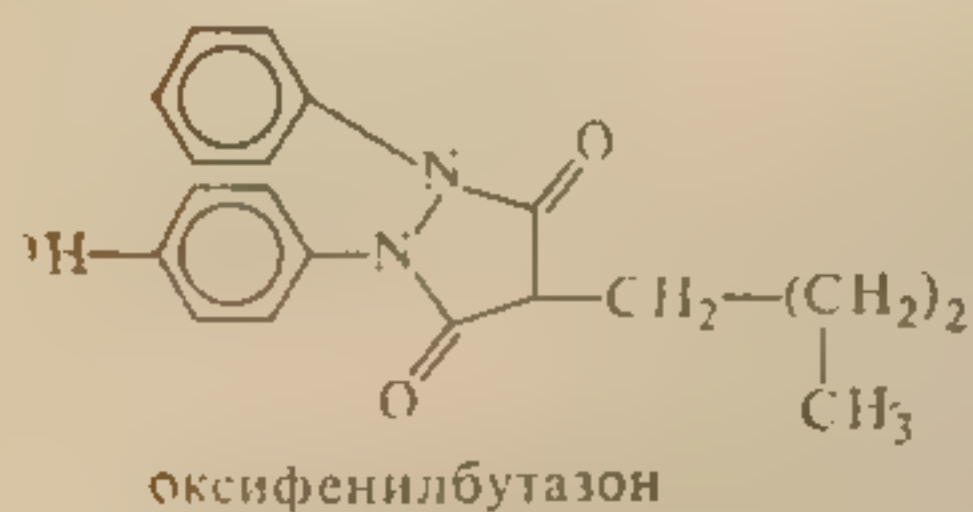
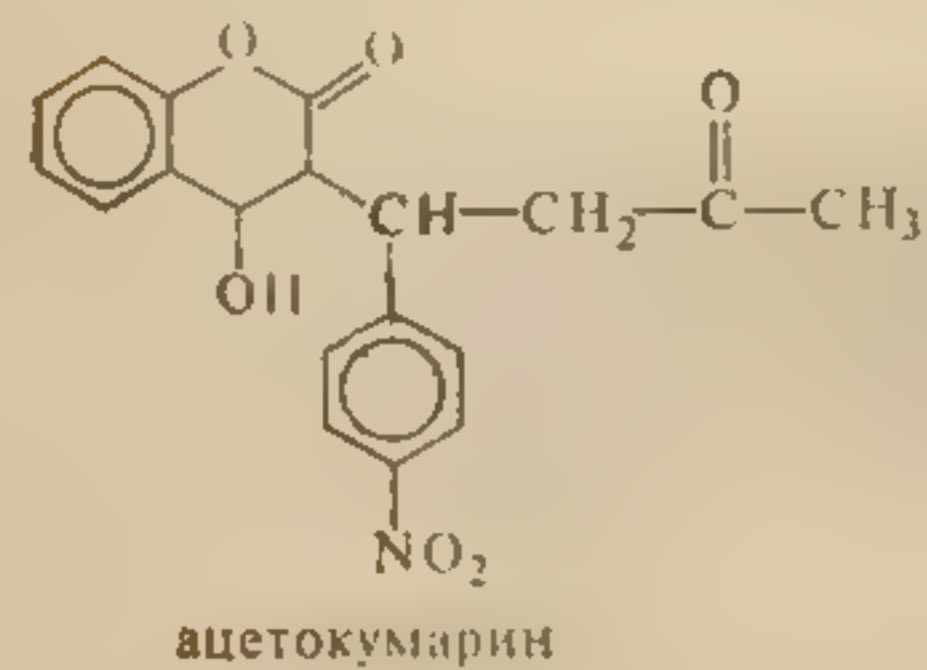
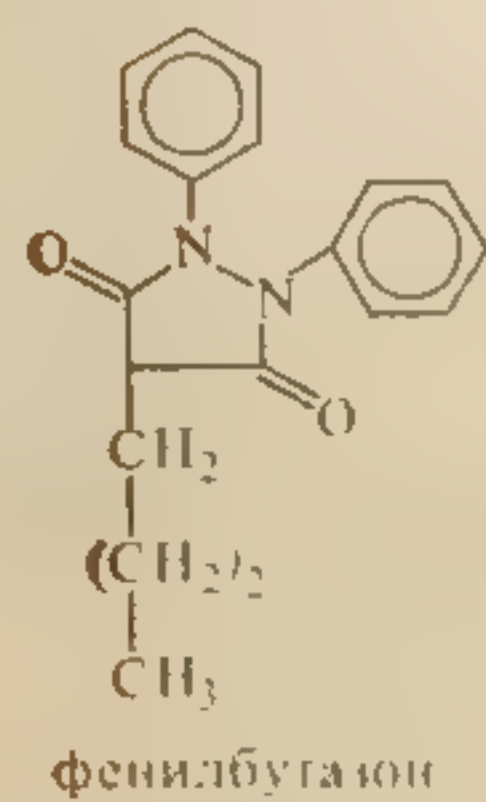
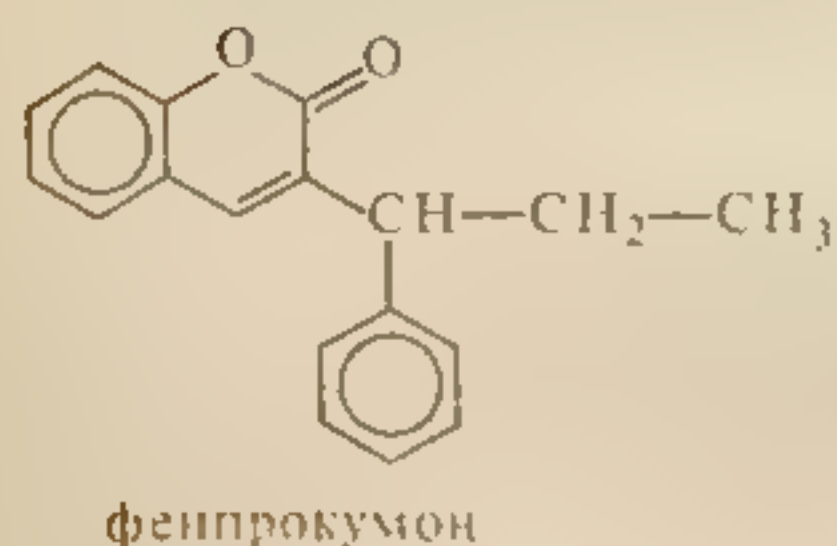
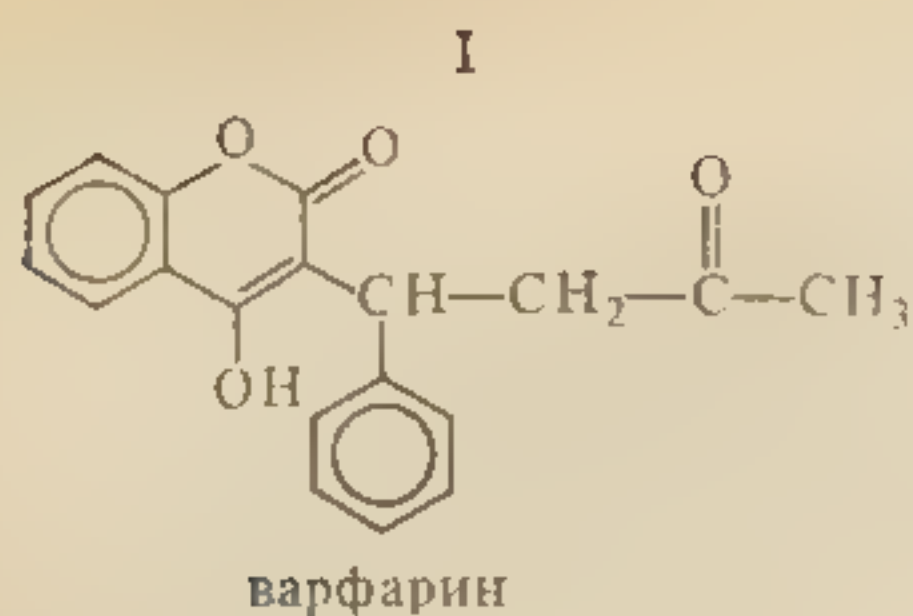
В то же время исследования Sudlow G. et al. (1976) показали, что существуют два различных связывающих участка с индивидуальной специфичностью. Вещества, имеющие сродство к первому или второму участкам связывания, представлены ниже.



Фенилбутан









К первой группе относятся ароматические кислоты (за исключением иофеноксиевой кислоты) с делокализованным отрицательным зарядом, а ко второй — соединения, сильно пониживаемые при физиологических рН и характеризующиеся локализацией отрицательного заряда на одном участке молекулы.

Хотя еще и нет рентгеноструктурной модели сывороточного альбумина, применение комплекса различных физико-химических методик в ряде случаев позволило некоторым авторам предложить гипотетические модели взаимодействия низкомолекулярных веществ с альбумином (рис. 4).

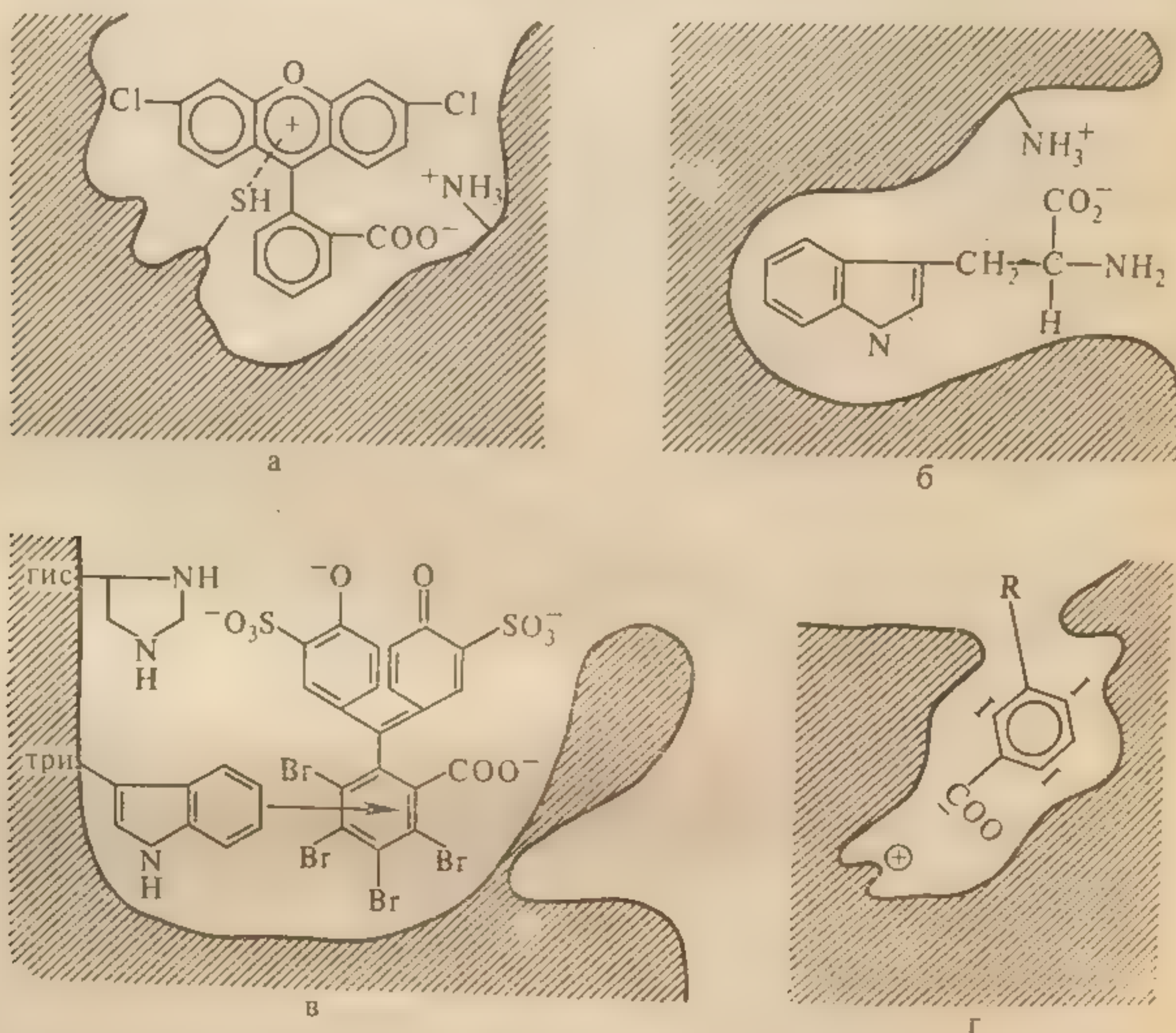


Рис. 4. Модели взаимодействия сывороточного альбумина с 3', 6'-дихлорфлураном (Fujimori, 1975) (а), триптофаном (Rande, McMenamy, 1974) (б), бромсульфаталейном (Pfaff et al., 1975) (в) и с рентгеноконтрастными веществами (П. В. Сергеев и др., 1980) (г)

На основании изложенного можно сделать вывод, что каждая группа веществ имеет только ей свойственные особенности взаимодействия с альбумином. Изучение молекулярных механизмов взаимодействия лекарств с альбумином важно не только для выяснения физико-химических факторов, которые определяют распределение и выведение лекарств из организма, но и для понимания механизмов взаимодействия лекарств с рецепторами. Поскольку сродство лекарств к альбумину часто коррелирует с их биологической активностью, комплекс альбумина с лекарством можно рассматривать как модель его взаимоотношений с рецептором.



#### § 4. Физиологическое значение связывания низкомолекулярных веществ с транспортными белками

Gillete J. R. (1973) указывал, что связывание лекарств с белками в зависимости от механизма выделения лекарства может ускорить или замедлить скорость его экскреции. Если вещество выделяется только посредством фильтрации почками, то тогда связывание с белками будет увеличивать время нахождения лекарства в организме. Для веществ, которые активно секретируются почечными канальцами, но которые затем реабсорбируются, связывание с белками тоже будет замедлять скорость их выделения. Кроме того, взаимодействие с сывороточными белками должно уменьшать метаболизм лекарств ферментативными системами печени, особенно когда константа Михаэлиса ферментов высока. Однако если лекарства быстро метаболизируются ферментами печени или быстро и активно секретируются почками, их клиренс (отношение скорости выделения к концентрации несвязанного лекарства) может приближаться к скорости кровотока через соответствующий орган.

Во всяком случае, можно утверждать, что процессы экскреции веществ из организма тесно связаны с физико-химическими показателями, обуславливающими образование комплекса «лекарство—сывороточный альбумин». При определенных условиях связывание лекарств с белками или клетками крови может увеличивать скорость выделения их из организма, т. е. по механизму экскреции лекарства можно судить, являются ли белки транспортными системами или «местом потерь». С увеличением времени полужизни лекарства в организме уменьшается вероятность первого и увеличивается вероятность второго явления. Часто, однако, вещества, которые прочно связываются с белками плазмы, также прочно связываются и с молекулами, расположенными в тканях. В таком случае время полужизни лекарства может быть большим (несколько дней, недель или даже лет), несмотря на то, что скорость их метаболизма или активной экскреции лимитируется главным образом скоростью кровотока. Поэтому нельзя быть всегда уверенным, что клиренс лекарства будет низкий, если время полужизни его в организме велико.

В большинстве теорий физико-химических факторов, определяющих путь экскреции лекарственных веществ из организма, в первую очередь рассматривается способность сывороточного альбумина связывать определенное лекарство и тем самым в зависимости от количественных и качественных характеристик комплексообразования способствовать выделению вещества печенью или почками. Особенно актуальны эти вопросы для рентгеноконтрастных веществ, так как сродство их к альбумину не только пропорционально гепатотропности вещества, но и его токсичности (П. В. Сергеев и др., 1980). Bang H. O. и Georg T. (1948, 1950) заметили, что введение атома хлора, брома или иода в фенолфталейновый радикал усиливает тропность его к протеинам крови и вещество избирательно выделяется с желчью.



Bennhold H. et al. (1950), изучив взаимодействие с плазменными белками 5-йодсодержащих рентгеноконтрастных веществ и 8 органических красителей, пришли к выводу, что те вещества, которые прочно связываются с белками, выделяются печенью, а те, которые слабо, — посредством почек.

Однако на основании того, что синий Эванса, несмотря на очень сильное связывание с сывороточным альбумином, выделяется в основном почками, парааминогиппуровая кислота при образовании слабых связей с альбумином выделяется печенью, Кноефел Р. К. (1971) критически рассматривает положение о связывании низкомолекулярных веществ с плазменными белками, согласно которому комплексообразование механически определяет билиарный путь экскреции. Причиной таких противоречий, вероятно, являются недостаточные знания о динамике комплексообразования, так как большую роль в экскреции веществ играет скорость диссоциации комплекса. Кроме того, не изучен вопрос о роли конформационных изменений сывороточного альбумина, происходящих при связывании его с лигандами, в определении органоспецифичности веществ.

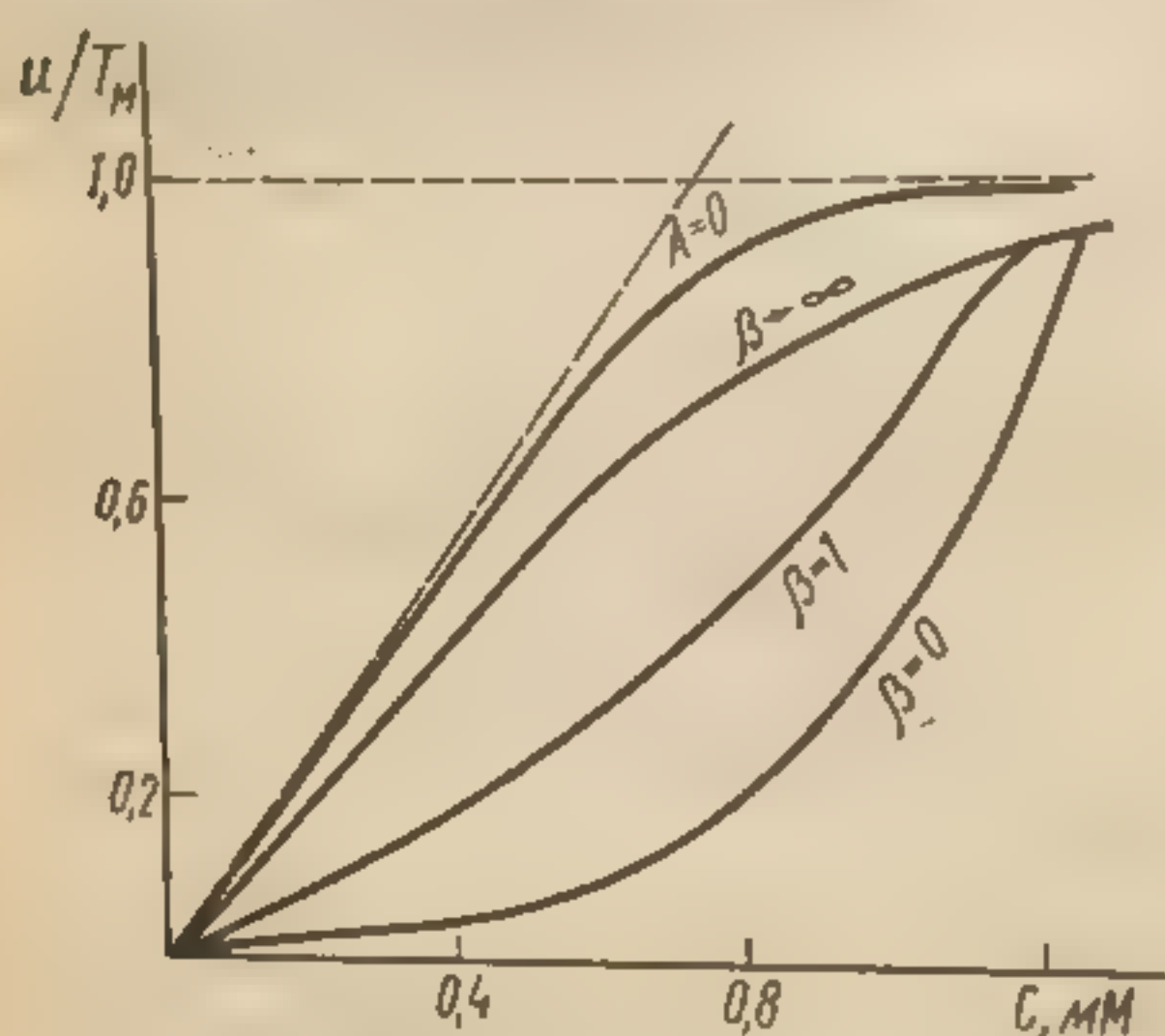


Рис. 5. Активная экскреция лекарств как функция концентрации их в плазме при различных скоростях диссоциации комплекса: по оси абсцисс — концентрация лекарства в плазме; по оси ординат — отношение скорости тубулярной секреции  $u$  к максимальной скорости  $T_m$  (Rodrigues De Miranda et al., 1975)

Rodrigues De Miranda et al. (1975), используя простую кинетику Михаэлиса—Ментен, рассчитали, как белковое связывание и время жизни комплекса влияют на активную экскрецию вещества (рис. 5).

На рисунке кривые экскреции ограничены штриховыми линиями: горизонтальной, которая отражает предел возможности экскретируемой системы (равенство скорости активной канальцевой экскреции и максимальной скорости этой экскреции  $T_m$ ) и наклонной, которая указывает предел тока через систему ( $u=VC$ , где  $V$  — объем плазмы, протекающей через систему, а  $C$  — общая концентрация экскретируемого вещества в плазме). Если принять, что  $K_d$  для комплексов альбумин—лиганд и внутриклеточный переносчик — лиганд одинаковы ( $5 \cdot 10^{-5}$  М), то получаются три экскреторные кривые, отражающие три различные скорости диссоциации комплекса сывороточный альбумин—лиганд  $k_2$  с учетом тока крови через систему  $t$ . На рис. 5 использовано отношение этих величин  $\beta = -k_2/t$ . Возможны следующие варианты: 1) диссоциация комплекса альбумин—лиганд не происходит:  $\beta=0$ ; 2) время жизни комплекса альбумин—лиганд намного превосходит время  $t$ :



$\beta \rightarrow \infty$ ; 3) время жизни комплекса альбумин—лиганд равно  $t$ :  $\beta = 1$ .

Если альбумина нет, то получается кривая, которая приближается к ограничивающим штриховым линиям.

Можно заключить, что независимо от времени жизни комплекса белковое связывание уменьшает количество активно секретлируемого лиганда до тех пор, пока не достигается максимальная транспортная способность системы, и что в области равенства времени жизни комплекса и времени  $t$  система очень чувствительна к изменению  $\beta$ , т. е. соотношению  $t$  и  $k_2$ .

Альбумин с измененным зарядом в противоположность нативному быстро исчезает из крови, поглощаясь лизосомами синусоидальных клеток печени. Можно предположить, что клетки печени каким-то образом «узнают» и активно захватывают комплексы альбумина, тем более, что структура белка под воздействием низкомолекулярных агентов часто значительно изменяется.

Следует отметить, что в настоящее время нет общей теории, которая предсказывала бы свойства веществ, необходимые для их секретирования с желчью.

По-видимому, печень способна секретировать связанные с белками плазмы вещества более эффективно, чем почки (даже если вещества активно секретируются проксимальными канальцами). Одной из причин этого может быть большая длина синусоидов печени и более медленный ток крови через них. Согласно данным А. М. Чернуха и др. (1975), эндотелиальная выстилка синусоидов печени образует межклеточные и трансэндотелиальные люки, обуславливающие самую высокую проницаемость микрососудов печени по сравнению со всеми другими органами.

Белковое связывание имеет решающее значение для клубочковой фильтрации в почках; вероятно, и почечная секреция уменьшается для веществ с большим белковым связыванием.

С другой стороны, нет доказательств, что только связанное с белком вещество выделяется печенью. Можно полагать, что физико-химические свойства, повышающие белковосвязывающую способность лекарственных веществ, увеличивают также печеночную секрецию.

Поскольку полярные вещества не могут проникать через липидный слой биомембран, логично предположить существование в секреторных клетках печени и почек специальных белков-переносчиков.

Такие транспортные системы еще не идентифицированы, однако Cornelius C. et al. (1967) показали, что бромсульфалеин связывается с плазматическими мембранами печени *in vitro*, а вещества, которые конкурируют с данной краской при выделении печенью *in vivo*, ингибируют связывание бромсульфалеина с клеточной мембраной *in vitro*. В связи с этим интересно отметить, что эти же вещества, а именно иодипамид, индоциановый зеленый, флависпиновая кислота находятся в конкурентных взаимоотношениях при связывании с сывороточным альбумином (Kamisaka K. et al., 1974).



Очевидно, альбумин имеет некоторое сходство с белками-переносчиками и может рассматриваться как модель таковых.

Объясняя внутриклеточный транспорт лекарственных веществ, Levi C. et al. (1969) придают большое значение Y- и Z-белкам.

Данные белки обнаружены в цитоплазме клеток печени, почек, кишечника, миокарда, жировой ткани и поперечно-полосатых мышц. Y-Белок, или, как его еще называют, лигандин, имеет молекулярную массу 46 000, константу седиментации 3,5S и, вероятно, состоит из двух субъединиц. Z-Белок в отличие от Y-белка — кислый белок с молекулярной массой 12 000 (Kamisaka K. et al., 1975). В то время как во вторичной структуре Y-белка в основном преобладает  $\alpha$ -спираль, в Z- —  $\beta$ -форма. Эти белки связывают большое количество различных соединений: билирубин, жирные кислоты, тироксин, стероиды, канцерогены, пенициллин, бромсульфалеин, нидоциановый зеленый, холецистографические вещества (Litwack G. et al., 1971).

Дальнейшие исследования в этом направлении показали, что роль лигандина в процессах экскреции лекарств с желчью заключается в связывании низкомолекулярных веществ в печеночной клетке и в определении уровня их внутриклеточной аккумуляции.

Еще один важный аспект, связанный с взаимодействием низкомолекулярных веществ с транспортными белками, — это регуляция последними физиологической активности лекарств. Связывание альбумином биологически активных веществ приводит к изменению их действия, при этом предотвращаются большие колебания между неэффективными и токсическими уровнями лекарств.

В результате многочисленных исследований Bennhold H. (1966) пришел к выводу, что необходимо специально выделять существование «транспортных» болезней — заболеваний, при которых недостаточность одного или нескольких переносчиков играет решающую патогенетическую роль; другой причиной «транспортной» болезни может быть введение в кровоток некоторых экзогенных веществ, способных вступать в соперничество за занятие зоны связывания на альбумине.

На важность связывания лекарственных веществ с альбумином указывает уже то, что побочные реакции при введении преднизолона, фенитоина и диазепама чаще встречаются у пациентов с гипоальбуминемией.

Особое значение имеют возможные конкурентные взаимоотношения низкомолекулярных веществ при их связывании с белками. Вещества, сходные по своему химическому строению, обычно имеют идентичные участки связывания, и присоединение одного из них по механизму конкурентного ингибирования уменьшает связывание другого. Если же вещества связываются в разных участках макромолекулы, то одно вещество аллостерически может увеличить или уменьшить взаимодействие другого.

Вытеснение связанного с альбумином лекарства может привести к нежелательным эффектам, так как активная несвязанная фракция лекарства может удвоиться или утроиться. Так, Aggeler V. H. (1967) описал наступление тяжелых геморрагических явлений у больных, которых лечили антикоагулянтном варфарином, при введении фенилбутазона или оксифенилбутазона, которые вытесняют варфарин и, таким образом, сильно повышают его анти-

...взаимодействием...  
...клетки...  
...Вытеснение...  
...гипотоническому...  
...В потенцировании...  
...действия одного...  
...лекарства другим...  
...роль, по-видимому, не только...  
...оказываемые эффек...  
...но и уменьшение...  
...метаболизма ве...  
...ществ в микросомах...  
...печени; возможно...  
...существует интер...  
...ференция и в процес...  
...экскреции...  
...Изменения в рас...  
...пределении и выде...  
...лении одного лекар...  
...ства при его вытес...  
...нении другим пред...  
...ставлены на рис. 6...  
...В результате вытес...  
...нения концентрация...  
...вещества в интерсти...  
...циальной жидкости...  
...внутри клеток воз...  
...растает, клубочко...  
...вая фильтрация уве...  
...личивается...  
...Изучение взаимодей...  
...ствования лекарств...  
...п дает ценную инфор...  
...мацию о механизмах...  
...распределения ле...  
...карств, полученных...  
...в результате пров...  
...ждения исследований...  
...показывает, что об...  
...ъемы связывания...  
...могут быть различ...  
...ными, что этот бел...  
...ок способен связы...  
...вать гетерогенные...  
...препараты...



Рис. 6. Схема взаимодействия лекарств и почечной экскреции — вытеснение — большая концентрация



коагулянтное действие. К подобным эффектам, вытесняя варфарин и другие взаимодействующие с альбумином антикоагулянты, могут привести клофибрат, этакриновая кислота, трихлоруксусная кислота (метаболит хлоралгидрата), мефенаминовая и налидиксовая кислоты. Вытеснение толбутамида фенолбутазоном, сульфеназином, салицилином может вызвать гипогликемию.

В потенцировании действия одного лекарства другим играют роль, по-видимому, не только отмечаемые эффекты, но и уменьшение метаболизма веществ в микросомах печени; возможно, существует интерференция и в процессах экскреции.

Изменения в распределении и выделении одного лекарства при его вытеснении другим представлены на рис. 6. В результате вытеснения концентрация вещества в интерстициальной жидкости и внутри клеток возрастает, клубочковая фильтрация увеличивается, а метаболизм и активная секреция вытесняемого лекарства уменьшаются.

Изучение взаимодействия транспортных белков с лекарствами *in vitro* дает ценную информацию о количественных и качественных характеристиках связывания. Но при перенесении в клинику результатов, полученных в эксперименте, необходимо всегда помнить, что объемы распределения связанных и несвязанных фракций лекарства могут быть различны. Кроме того, поскольку исследования часто проводятся с использованием сывороточного альбумина, полученного от разных видов животных, нужно помнить, что этот белок из сыворотки животных отличается по своей связывающей способности от человеческого. Нельзя не учитывать гетерогенности препаратов альбумина, которая может быть обус-

ловлена взаимодействием с белками плазмы.

Изучение взаимодействия транспортных белков с лекарствами *in vitro* дает ценную информацию о количественных и качественных характеристиках связывания. Но при перенесении в клинику результатов, полученных в эксперименте, необходимо всегда помнить, что объемы распределения связанных и несвязанных фракций лекарства могут быть различны. Кроме того, поскольку исследования часто проводятся с использованием сывороточного альбумина, полученного от разных видов животных, нужно помнить, что этот белок из сыворотки животных отличается по своей связывающей способности от человеческого. Нельзя не учитывать гетерогенности препаратов альбумина, которая может быть обус-

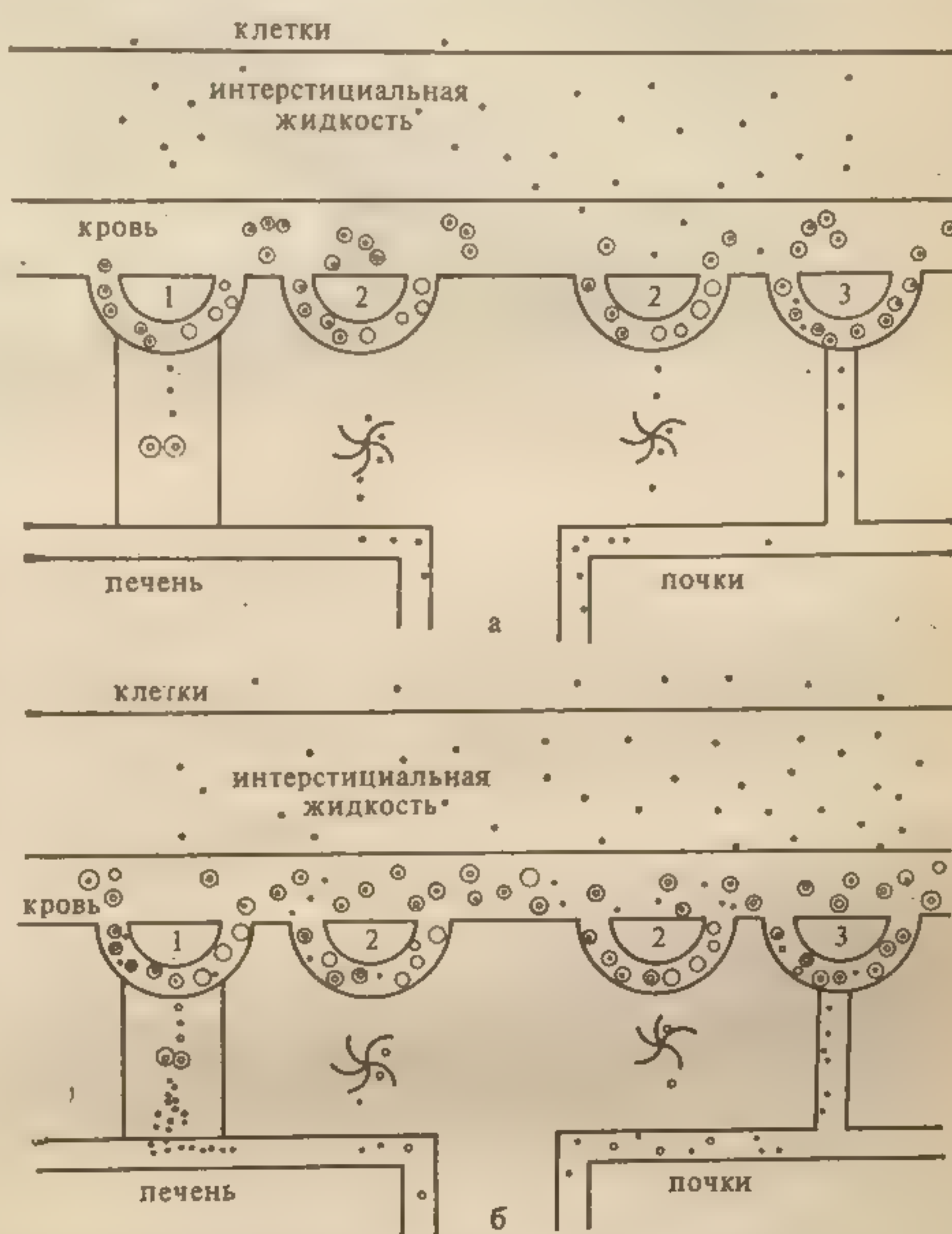


Рис. 6. Схема экскреции одного лекарства в печени и почках до (а) и после его вытеснения из связи с белками плазмы другим веществом (б):  
• — вытесняемое; ○ — вытесняющее лекарство; 1 — метаболизирующая; 2 — секреторная клетка; 3 — клубочек



ловлена «функциональным старением» (Г. В. Троицкий и др., 1976) и генетическими особенностями. Причем связывающая способность альбумина может меняться при некоторых заболеваниях (Reidenberg M. M. и Afrime M., 1973).

Естественно, что при вытеснении низкомолекулярных веществ или при насыщении ими связывающей способности альбумина они могут взаимодействовать с другими компонентами крови. Однако детального анализа в этом отношении не проводилось. Для некоторых соединений билирубина, дифенилгидантоина показано, что при заполнении связывающих участков альбумина эти агенты взаимодействуют с эритроцитами.

На основании того, что с помощью спиновых зондов Wallach et al. (1974) выявили качественную аналогию липид-белковых взаимодействий в мембранах эритроцитов и взаимодействия липидов с гидрофобными областями сывороточного альбумина, можно полагать, что не только названные вещества, но и другие гидрофобные соединения при определенных условиях связываются и переносятся эритроцитами.

Эритроциты, так же как и сывороточный альбумин, обладают огромной связывающей емкостью для липофильных низкомолекулярных соединений, поэтому и связывание лекарственных веществ эритроцитами также сильно должно влиять на их фармакокинетику и фармакодинамику.

В заключение отметим, что если эндогенные физиологически активные вещества могут вступать во взаимодействие как со специфическими, так и неспецифическими транспортными системами, то экзогенные лекарственные вещества связываются в основном неспецифическими транспортными системами.

Для получения полной информации о характере транспорта низкомолекулярных соединений системой крови необходимо исследовать их взаимодействие со всеми составными ее компонентами, но в первую очередь следует обращать внимание на их связывание с альбуминами и эритроцитами, как основными неспецифическими транспортными системами крови.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Арчаков А. И. Микросомальное окисление. — М.: Наука, 1975.  
 Грин Д., Гольдбергер Р. Молекулярные аспекты жизни. — М.: Мир, 1968.  
 Парк Д. Биохимия чужеродных соединений. — М.: Медицина, 1973.  
 Портер К. Функциональная морфология клетки. — М.: ИЛ, 1963, с. 86—112.  
 Сергеев П. В., Ведерникова Н. Н., Майский А. И., Арчаков А. И. — Фармакол. и токсикол., 1973, № 3, с. 365—371.  
 Alvares A. P., Siekevitz P. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1973, v. 54, p. 923—929.  
 Comai K., Gaylor I. J. Biol. Chem., 1973, v. 248, p. 4947—4955.  
 Estabrook R. W., Hildebrandt A. G., Baron I. et al. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1971, v. 42, p. 132—139.  
 Gillette J. R. Annals of the New York Academy of Sciences, 1972, v. 179, p. 43—66.  
 Helmut G. Chem. Biol. Interactions, 1971, v. 3, p. 271—273.



- Orrenius S. *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, 1971, v. 29, N 3, p. 191—202.
- Parke D. V. *Chem. Brit.*, 1972, v. 8, p. 102—106.
- Sanckmann E., Träube H. J. *Amer Chem. Soc.*, 1972, v. 94, p. 4482—4491.
- Welton A. F., Aust S. D. *Biochem. and Biophys. Res. Comm.*, 1974, v. 56, p. 898—906.
- Измайлова В. Н., Ребиндер П. А. Структурообразование в белковых системах. — М.: Наука, 1974.
- Сергеев П. В., Свиридов Н. К., Шимановский Н. Л. Рентгеноконтрастные средства. — М.: Медицина, 1980.
- Сергеев П. В., Ульяновская Т. И., Сейфулла Р. Ф., Гребенщиков Ю. Б., Лихтенштейн Г. И. — *Мол. биол.*, 1974, 8, с. 206—305.
- Сергеев П. В., Тажибаев Ш. С., Сейфулла Р. Д. Витамин D. — Алма-Ата.: Наука, 1974.
- Сергеев П. В., Сейфулла Р. Д., Майский А. И. Физико-химические механизмы и гормональная регуляция свертывания крови. — М.: Наука, 1974.
- Сергеев П. В., Магай И. А., Степанянц А. У. и др. — *Мол. биол.*, 1976, 10, с. 1176—1184.
- Троицкий Г. В., Ажицкий Г. Ю., Богдасарян С. Н. и др. — *Мол. биол.*, 1976, 12, с. 89—98.
- Curry S. H. *Blaskewll Scientific publ.*, 1974.
- Fletcher J. E., Spector A. A. *Mol. pharmacol.*, 1977, v. 13, p. 387—399.
- Gillete J. R. *Ann. N-Y. Acad. Sci.*, 1973, 226, p. 6—17.
- Sudlow G., Birkett D. J., Wade D. W. *Mol. Pharmacol.*, 1976, v. 12, p. 1052—1061.
- Swaney J. B., Klotz I. M. *Biochemistry*, 1970, 9, p. 2570—2574.
- Wallach D. F. H., Verma S. P., Weidekam E., Bieri V. *Biochim. Biophys. Acta* 1974, v. 356, p. 68—81.
- Walker I. E. *FEBS Lett.*, 1976, v. 66, p. 173—175.
- Wosilait W., Nagy P. *Res. Commun. Chem. Pathol. and Pharmacol.*, 1976, v. 14, p. 75—81.



# ЧАСТЬ III

## БИОХИМИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ С РЕЦЕПТОРАМИ

### ГЛАВА I

#### ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ РЕЦЕПЦИЯ КАК ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА КОНСТРУИРОВАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

В настоящее время при создании лекарственных веществ четко вырисовываются три стороны одной проблемы: теоретическая разработка, экспериментальная проверка и клиническая апробация новых фармакологически активных веществ. Следовательно, современный фармаколог должен обладать широким диапазоном знаний, позволяющих ему разбираться во всех тонкостях различных аспектов конструкции и апробации лекарственных веществ.

В настоящем разделе будет сделан анализ первичных фармакологических реакций, включающих взаимодействие лекарственных веществ с чувствительными к ним биомолекулами, выполняющими функцию рецепторов.

#### § 1. Кинетика комплексообразования фармакологического препарата с рецептором

В процессе эволюции усложнялись и совершенствовались специализированные молекулярные распознающие устройства клеток, способные воспринимать и передавать сигналы высших регуляторных центров с помощью медиаторов (посредников) и гормонов. Как известно, при значительном различии функционирования нервной и эндокринной системы организма имеется ряд общих черт, которые, по всей вероятности, определяют единство принципов регуляции живых систем.

Анализ данных о структуре и функции рецептора позволяет сформулировать последовательность процессов, протекающих в компетентной клетке при взаимодействии лекарственных средств с рецепторами, локализованными на биологической мембране:

фармакологический препарат  $[A]$   $\xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1}$  рецептор  $[P]$  (изменение конформации рецептора)  $\xrightleftharpoons[k_{-2}]{k_2}$  биологическая мембрана

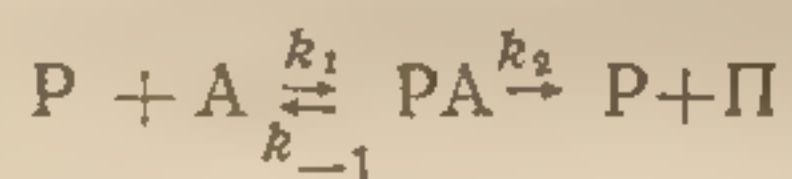


(изменение проницаемости мембраны)  $\xrightleftharpoons[k_{-3}]{k_3}$  передача информации в клетку (образование посредника или проникновение лекарственного вещества в клетку)  $\xrightleftharpoons[k_{-4}]{k_4}$  изменение метаболизма и функции клетки  $\xrightleftharpoons[k_{-5}]{k_5}$  изменение функции органа,

где  $k_1$  — константа, характеризующая степень конформационных изменений при взаимодействии лекарственного вещества с рецептором. Она зависит от структурной комплементарности партнеров реакции;  $k_2$  — константа, отражающая способность  $A+P$  формировать каналы проводимости в мембране или изменять ее проницаемость;  $k_3$  — константа, определяющая скорость проникновения интермедиата или лекарственного вещества в клетку;  $k_4$  — константа, характеризующая степень сдвигов той или иной биохимической реакции;  $k_5$  — константа, отражающая изменение функции органа.

Конкретные значения констант в каждой из фаз можно рассчитать при помощи кинетических уравнений. Взаимодействие фармакологического препарата с рецептором  $A+P$  протекает, по крайней мере, в три этапа: 1) образование комплекса  $A+P$ ; 2) внутримолекулярная перегруппировка вслед за образованием комплекса (и образование продуктов реакции, если рецептор есть фермент); 3) диссоциация комплексов.

На основании представлений Михаэлиса—Ментен можно вывести следующее кинетическое уравнение:



где  $P$  — рецептор;  $A$  — фармакологический препарат;  $PA$  — комплекс рецептор — фармакологический препарат;  $\Pi$  — продукт реакции;  $k_1$  и  $k_2$  — константы скорости. Скорость всей реакции пропорциональна концентрации комплекса  $PA$ :

$$v = \frac{d[\Pi]}{dt} = k_2 [PA]. \quad (72)$$

Константу равновесия комплекса  $AP$  можно получить из уравнения диссоциации этого комплекса:

$$K_m = k_{-1}/k_1 = [A][P]/[A]$$

и уравнения постоянства суммы концентрации всех форм рецептора, существующих во время реакции:

$$[P_t] = [P] + [PA],$$

где  $[P_t]$  — суммарная концентрация рецептора;  $[P]$  — концентрация свободного рецептора. Отсюда

$$[PA] = [P_t] [A]/([A] + K_m).$$

Учитывая значения  $PA$  и подставляя его в уравнение (72), получаем:



$$v = k_2 [P_t] [A] / ([P] + K_m).$$

Так как максимальная скорость при высоких концентрациях фармакологического препарата, при которых происходит насыщение рецептора, равна  $k_2[P_t]$ , то предыдущее уравнение можно упростить:

$$v = v_m [A] / ([A] + K_m),$$

где  $v_m$  — максимальная скорость реакции для данных условий опыта.

Константа Михаэлиса  $K_m$  характеризует диссоциацию комплекса РА и величину, обратную сродству рецептора и фармакологического препарата.

Следует, однако, заметить, что простая интерпретация возможна лишь для некоторых элементарных реакций, в то время как при взаимодействии фармакологически активных веществ имеют место более сложные условия, и в этих условиях применение простого уравнения Михаэлиса—Ментен приводит к неправильной трактовке результатов. Так, в частности, ограничением применения данных уравнений может быть состояние, когда рецептор имеет два активных центра, когда с одним рецептором взаимодействуют несколько фармакологических препаратов. Существенное влияние может оказывать вода на константу Михаэлиса за счет гидратации активного центра и гидратации молекулы фармакологического препарата.

При необходимости составления более сложных кинетических уравнений можно пользоваться методом стационарных концентраций, суть которого заключается в том, что концентрация всех промежуточных комплексов постоянна (Л. Уэбб, 1966). Как было сказано, этот метод более сложный, чем метод, основанный на рассмотрении равновесных состояний, но в отличие от последнего он позволяет получить константы, имеющие более общий смысл, так как не вводятся предположения о достижении равновесия.

## § 2. Принципы внутриклеточной компартментализации и рецепция

Сложность проблемы рецепторов связана с тем, что клетка разделена на ряд компартментов, а взаимоотношения между ними практически не изучены.

Клетка является особенно важной формой организации молекулярных структур, имеющей интра- и экстрацеллюлярные рецепторы. В результате многочисленных рецепторных механизмов в клетке поддерживается обмен веществ, энергообмен с окружающей средой; она возбудима и отвечает на возбуждение определенными реакциями.

Вейсс (1961) высказал интересную мысль, которая вполне может быть применима к молекулярной фармакологии. Реалистичная концепция поведения клетки должна учитывать возможность



ограничения взаимодействия из-за образования отделений внутри отделений. По его мнению, никакой внешний агент (физический или химический) не может воздействовать на внутренние оболочки иначе, как через посредство промежуточных оболочек. Они, в свою очередь, могут модифицировать внешний фактор на пути внутрь системы. Продукты же внутренних систем не могут достигнуть внешних оболочек в неизменном состоянии. Они также могут быть изменены и экранированы.

Так как рецепторы в большинстве своем или тесно связаны с мембранами, или находятся внутри клеток, то проблема клеточной проницаемости для фармакологических препаратов на пути к рецептору не должна быть опущена при изучении вопроса о поведении рецепторов.

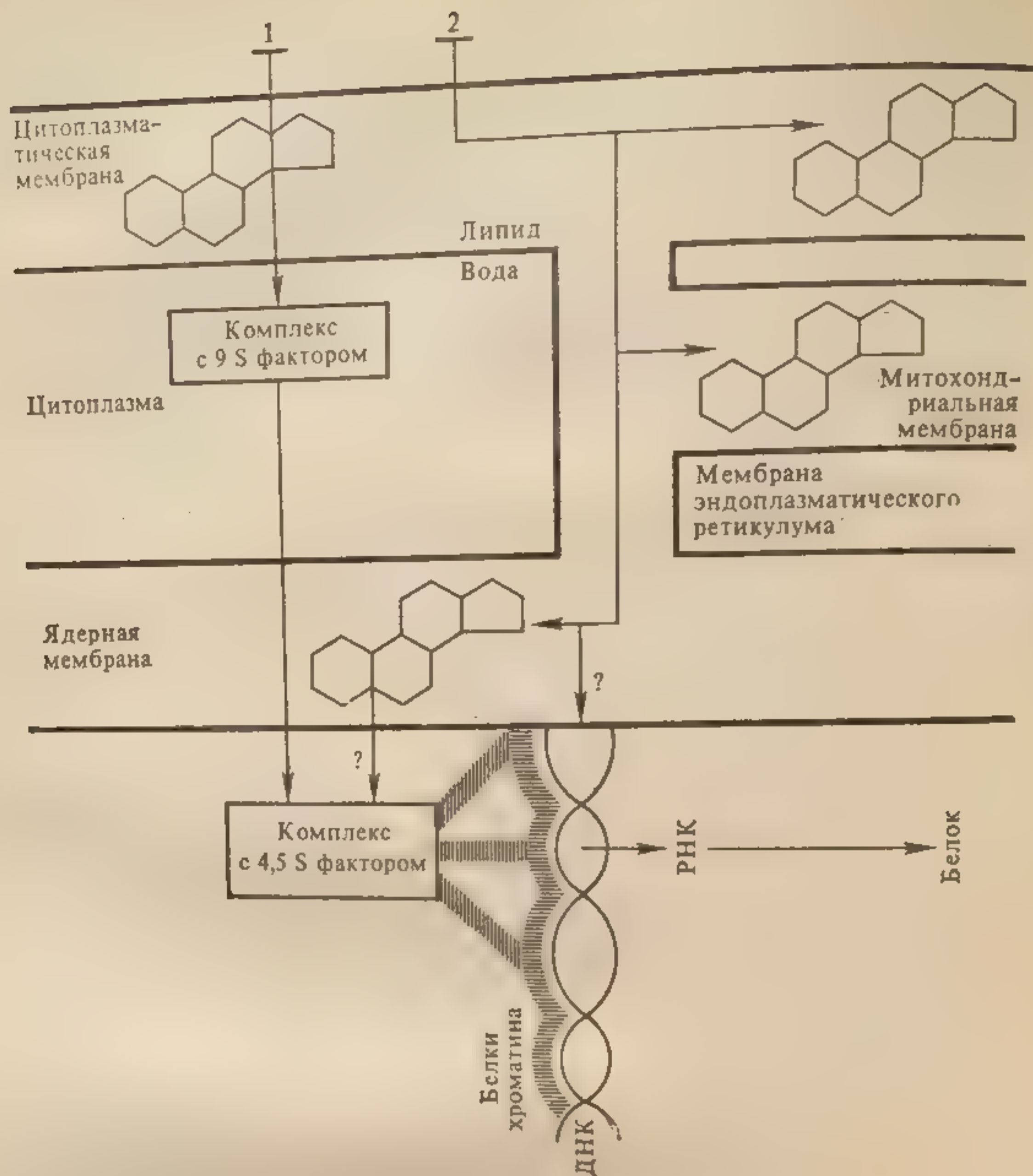
Если фармакологический препарат диффундирует через мембрану в объемы сферической или цилиндрической формы, следует учитывать отношение объемов к поверхности мембраны, как указывает Л. Уэбб, а также снижение гомогенности системы. Кинетические уравнения в данном случае становятся очень сложными и при этом необходимо обращать внимание на дополнительные параметры, равно как и на уменьшение концентрации фармакологического препарата по мере удаления от поверхности мембраны. По-видимому, без доказательств можно принять, что проникновение фармакологических препаратов через клеточные мембраны зависит от строения индивидуальных мембран и от физико-химических свойств фармакологического препарата. Растворимость в воде, полярность, липофильность — один из главных свойств, учитывая которые, можно заранее предсказать, каким путем проникает тот или иной фармакологический препарат в клетку. Кроме того, фармакологические препараты могут диффундировать в латеральной плоскости мембран клеток, не пересекая мембрану поперек. Это положение позволяет по-новому рассматривать транслокацию фармакологических препаратов в клетку (схема 3). На схеме показаны два пути транслокации стероида в клетку: по биологическим мембранам в латеральной плоскости (1) и через биологическую мембрану (2).

Так как клетка представляет собой сложную систему «отсеков», отделенных друг от друга барьерами-мембранами, которые могут «скрывать» рецепторы для фармакологических препаратов, то проблема компартментализации является актуальной и в данном случае. Мембраны клеток могут существенным образом лимитировать количество поступающего фармакологического препарата в клетку и скорость его проникновения.

Знание  $pK_a$ , а также и других характеристик фармакологических препаратов позволяет предсказать возможность их взаимодействия с рецепторами, расположенными в разных частях клетки. Фармакологический препарат взаимодействует с наружным (на мембране) рецептором, если наличие или отсутствие липофильных группировок в заданной химической структуре не отражается на их эффективности, а также если вещества, образующие только 70%



Схема 3



активной ионной формы (при определенном значении рН), не более эффективны препаратов, ионизированных полностью.

Если эти условия не соблюдаются, то считают, что рецептор расположен внутри клетки. В последнем случае исследование ионизации затруднительно, поэтому важное значение приобретает определение рН среды, в которой находится рецептор.

### § 3. Понятие о структурной комплементарности лекарственного вещества и рецептора

Принципиально возможно, что при введении любого фармакологически активного вещества оно будет реагировать с огромным количеством молекул в организме. Однако на самом деле этого не происходит, а имеет место селективное распределение и селективное взаимодействие с биомолекулами. Такие молекулы рассматривают как партнеры в фармакологических реакциях. Партнерами в фармакологических реакциях могут быть структурные и ферментные белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды, ли-



пиды и др. Как правило, у биомакромолекул имеются определенные участки, которые непосредственно вступают в реакции. Эти участки характеризуются своей стереоспецифической структурой, что позволяет им взаимодействовать и вступать в определенные связи с низкомолекулярными веществами (фармакологическими препаратами).

В зависимости от величины молекул фармакологических препаратов они могут взаимодействовать или со всей рецепторной молекулой, или с ее составной частью.

Посредством расположения определенных групп в молекуле рецептора (аминокислотных остатков, нуклеотидов, фосфатидов, сахаров и др.) образуется трехмерное силовое поле, которое представляет пространство или территорию рецептора. Это силовое поле позволяет взаимодействовать с силовыми полями подвижных веществ — фармакологических препаратов. Причем взаимодействие тем сильнее, чем больше структурная комплементарность между рецептором и фармакологическим препаратом.

При изучении образования комплекса фармакологический препарат — рецептор исследователь должен ответить на следующие вопросы: 1) какова первичная, вторичная, третичная и четвертичная структура молекулы, содержащей рецептор? 2) какая часть молекулы лекарственного вещества взаимодействует с рецептором? 3) какая часть рецептора взаимодействует с лекарственным веществом? 4) какого рода связи устанавливаются между лекарственным веществом и рецептором? 5) как изменяются физико-химические свойства рецепторов при взаимодействии с лекарственным веществом? 6) как изменяются функции биологических мембран в результате взаимодействия рецептора с лекарственным агентом?

Различают несколько вариантов рецепторных образований для фармакологически активных веществ в организме (Scheler, 1969):

1. Рецепторная область сформирована стереоспецифическим расположением аминокислотных остатков одной молекулы. Эти мономолекулярные рецепторы стационарны и находятся в форме, готовой к соединению с молекулой фармакологического препарата.

2. Рецепторная область может быть комплементарной нескольким молекулам.

3. Рецепторная область может быть образована боковыми группами аминокислот соседних белков. Тогда она обозначается как межмолекулярный рецептор. Фармакологический препарат с комплементарной структурой рецепторному полю может нарушить межмолекулярные взаимоотношения или разъединить функциональные цепи (например, меркурийсульфонат может находиться между двумя молекулами миоглобина в сферической позиции).

Как было сказано раньше, оптимальные взаимоотношения фармакологического препарата и рецептора предполагают структурную комплементарность между ними. Имеется достаточно данных, которые позволяют сделать вывод, что экзогенные и эндогенные биологические вещества могут изменять конформацию макромолекул. Конформационные перестройки в конечном итоге могут быть



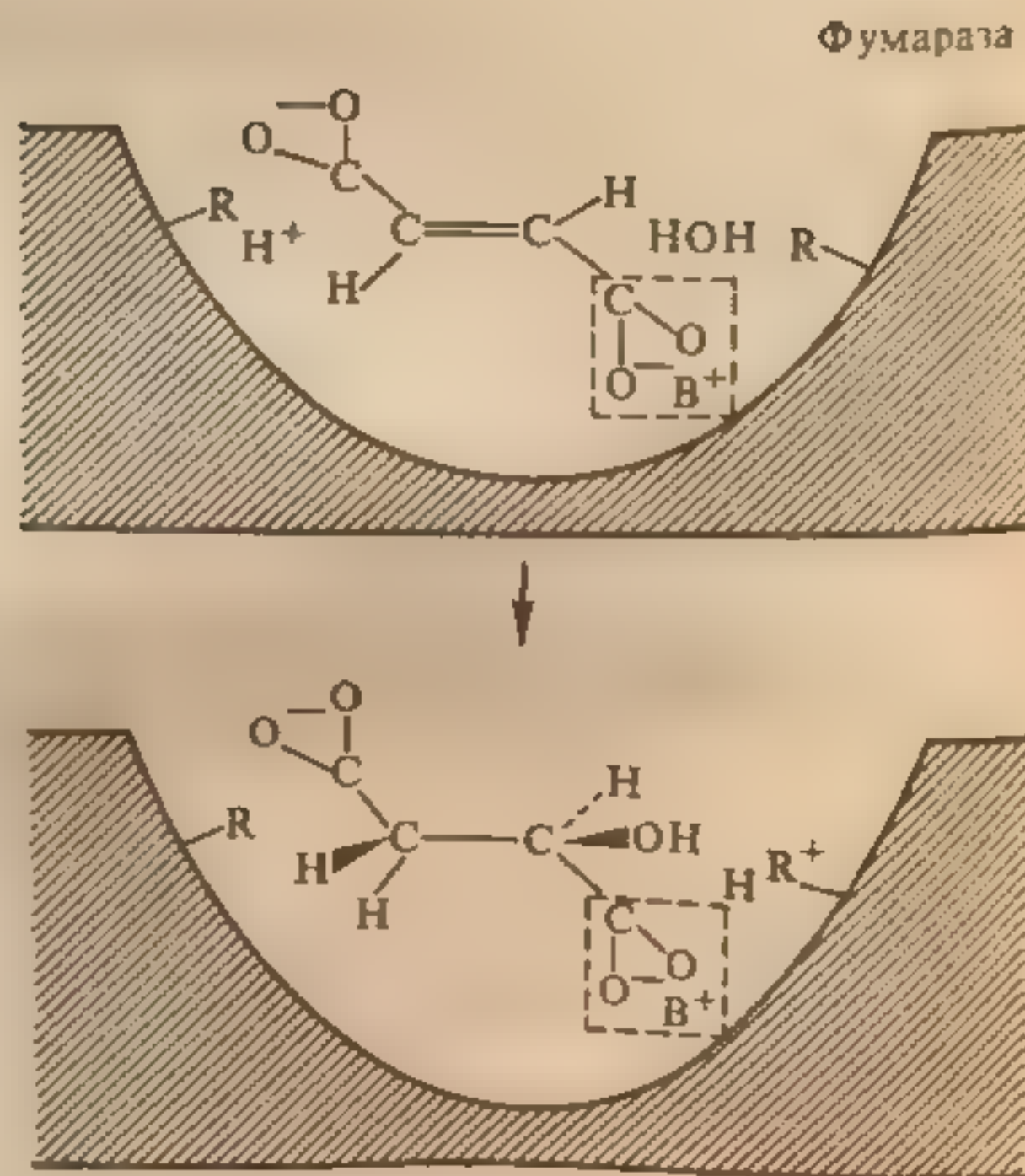
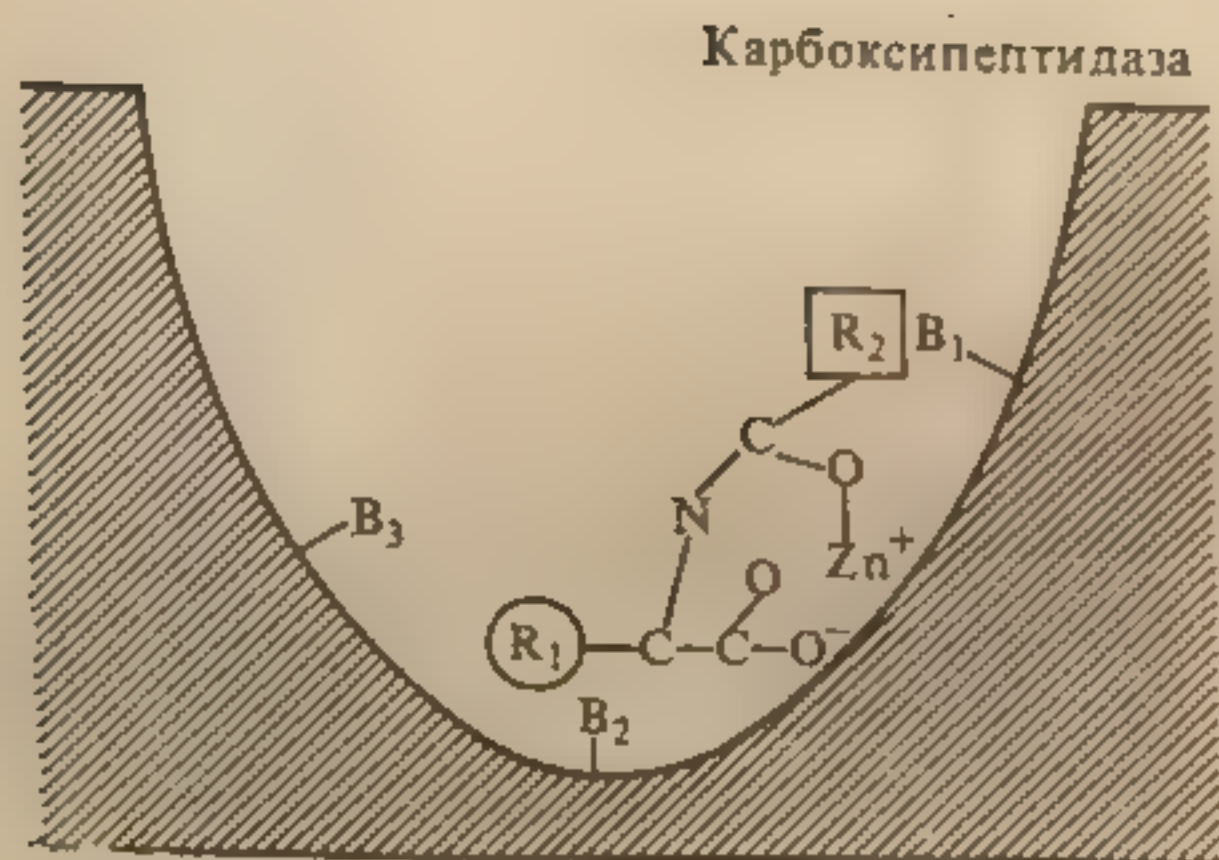
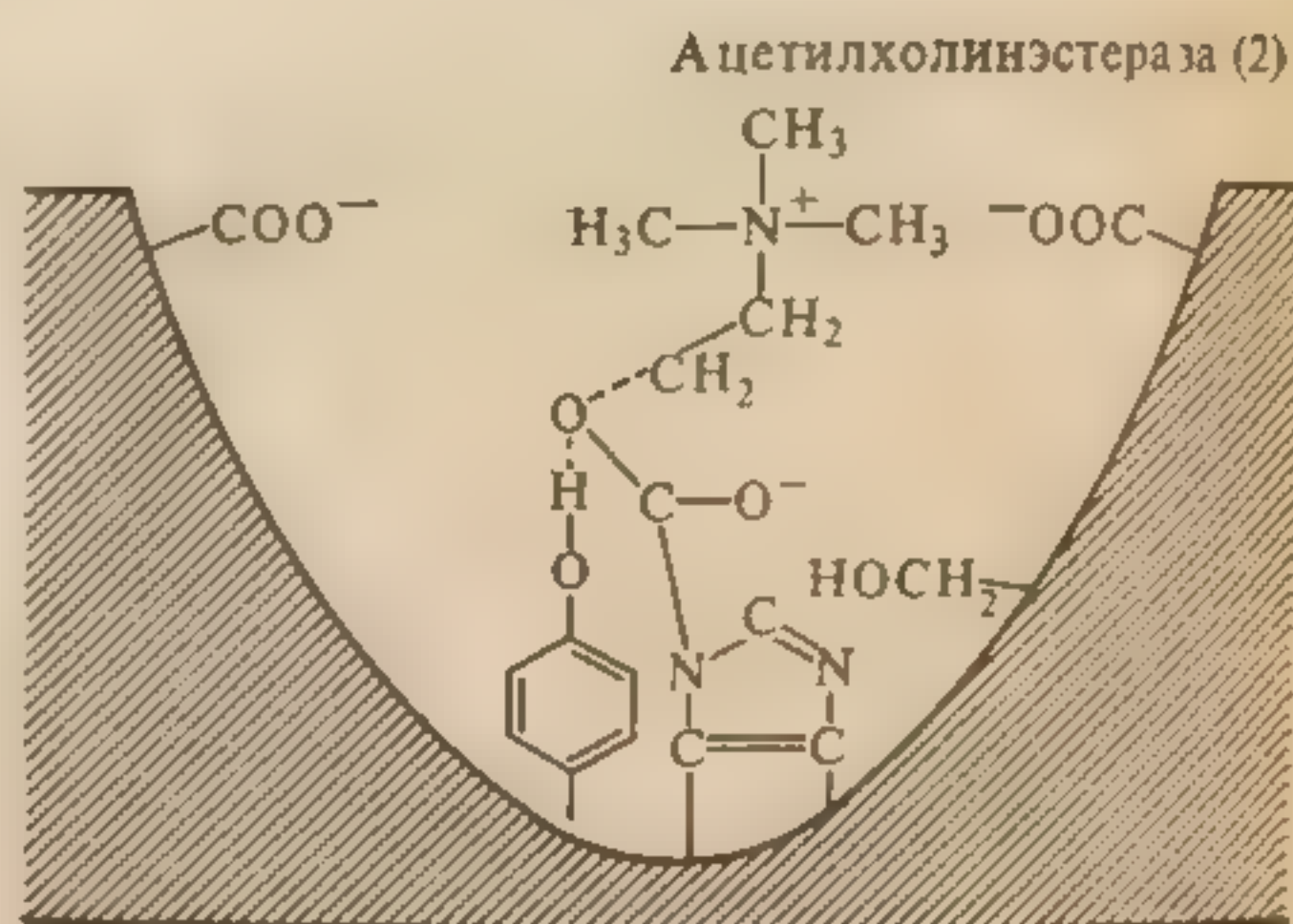
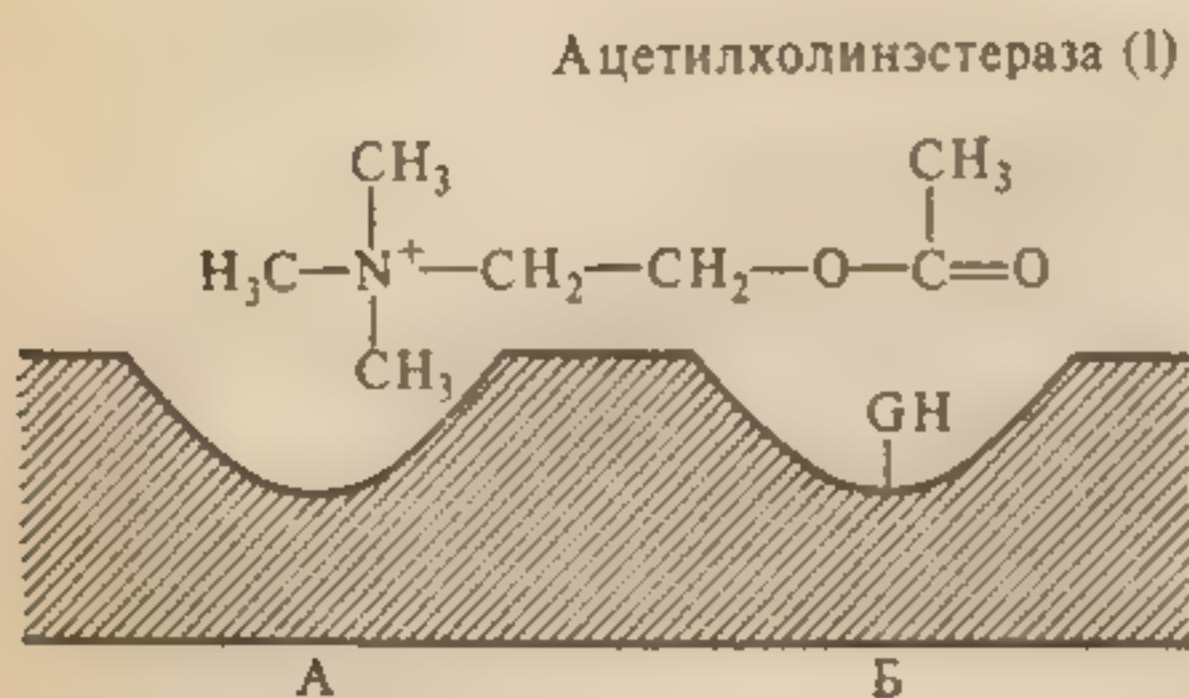
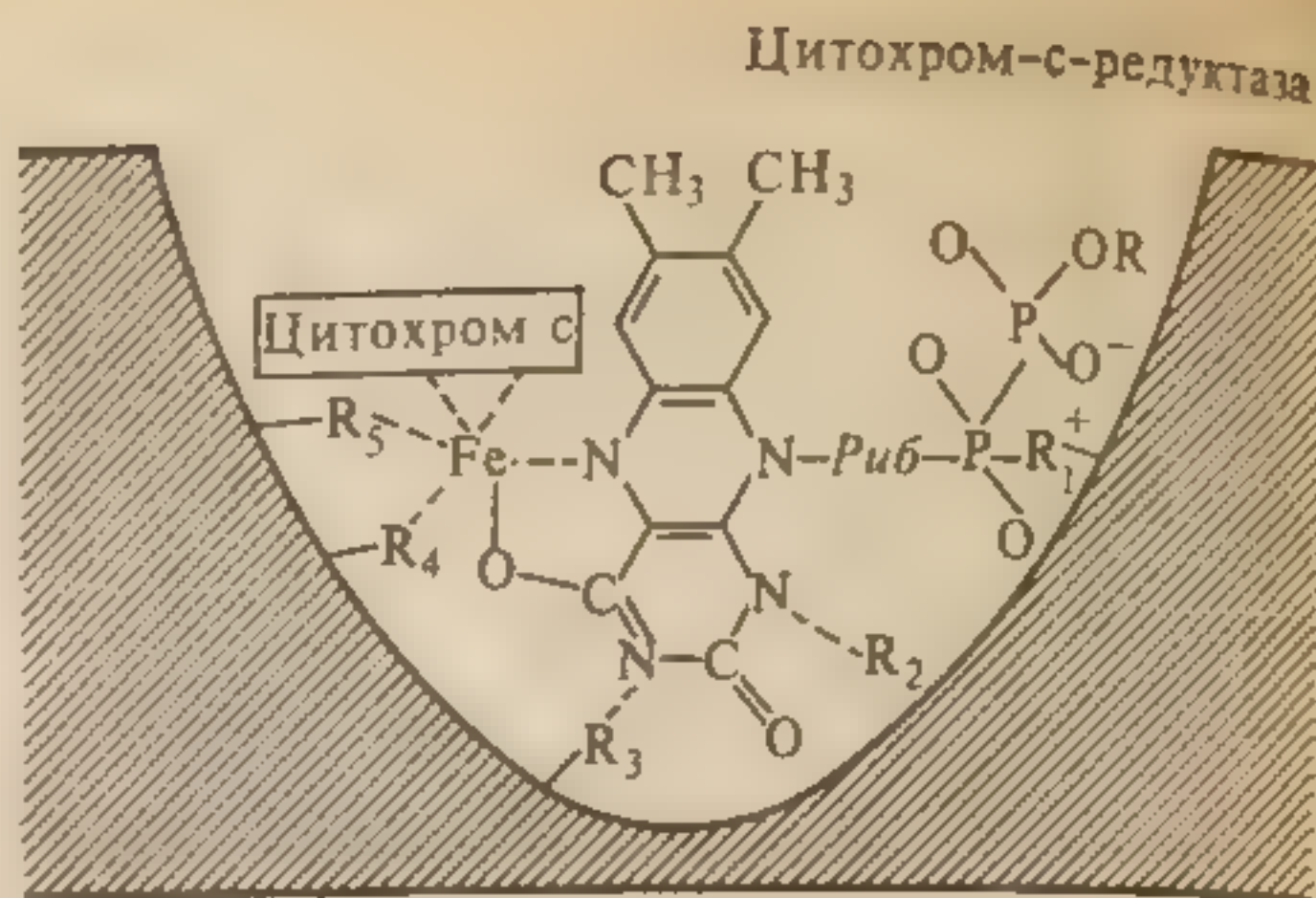
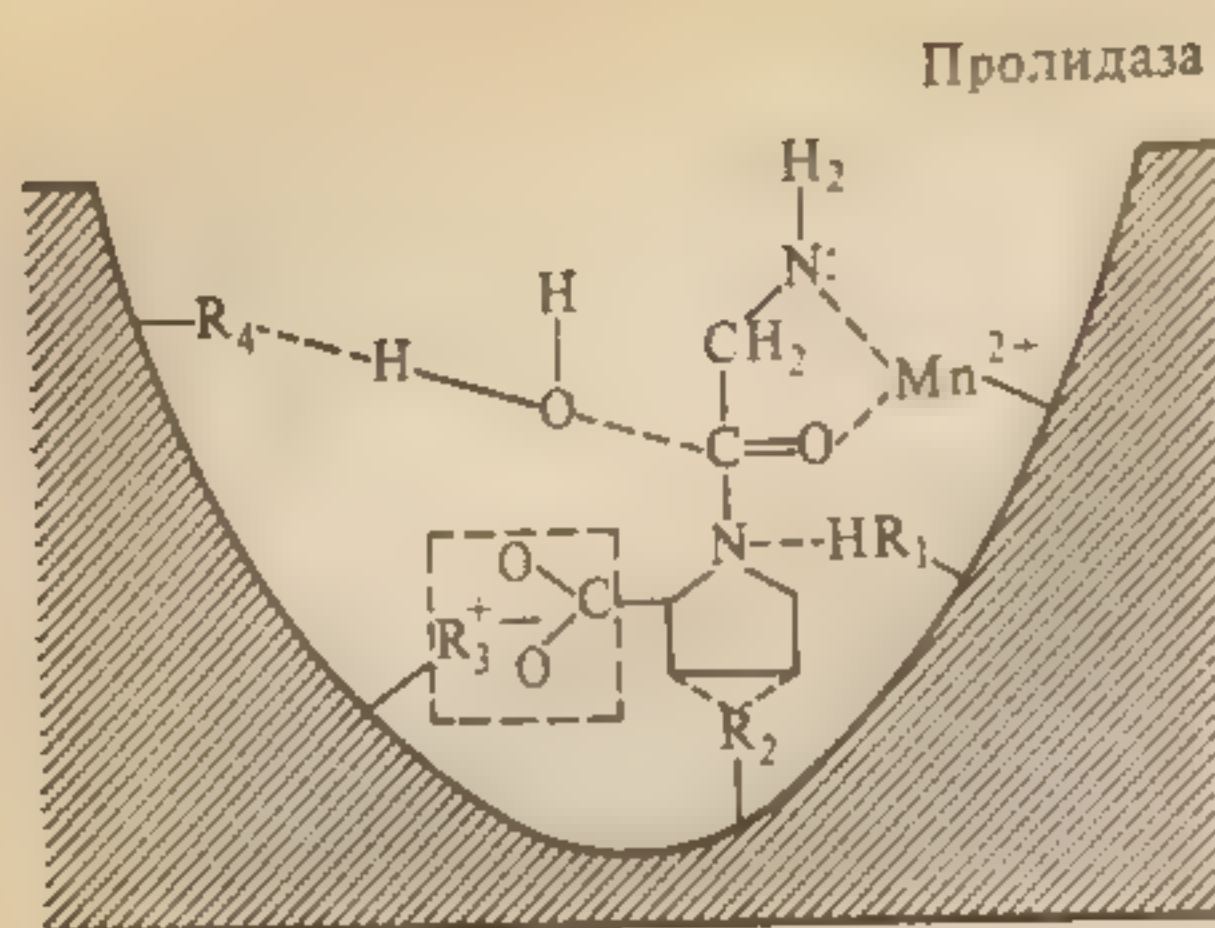


Рис. 7. Взаимодействие биологически активных соединений с активными центрами ферментов (или рецепторами первого порядка (Уэбб, 1966))



причиной или активации, или ингибирования ферментативной активности.

Если рецепторное поле расположено в отдалении от активного центра фермента, то оно обозначается как рецептор второго порядка.

В отличие от рецепторов второго порядка активные центры ферментов, так называемые субстратные рецепторы, принято называть рецепторами первого порядка. Активные центры некоторых ферментов — субстратные рецепторы первого порядка — представлены на рис. 7.

Фермент может взаимодействовать лишь с некоторыми группировками субстрата. Есть сведения, что большинство субстратов должно связываться с активным центром фермента двумя или большим числом точек. Примером может служить образование комплекса антибиотика циклосерина с ферментом трансаминазой. Р. М. Хомутов и др. считают, что циклосерин, подобно аминокислоте, закрепляется на катионной группе активного центра фермента и образует азаметиновое производное с коэнзимом. Это азаметиновое производное циклосерина и коэнзима ацилирует одну из реакционноспособных групп в активном центре фермента; нормальное функционирование его становится невозможным (рис. 8).

В рецепторах — белках — выделяют первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуры. Первичная структура представляет собой аминокислотную последовательность полипептидных цепей и составляет основу молекул-белков (рис. 9). Эта основа определяет вторичную и третичную структуры. Ко вторичной структуре относятся свернутые в спираль полипептидные цепи, стабилизированные водородными связями. Третичная структура — полная конформация белковой молекулы, вызванная взаимодействием боковой цепи и растворителя, где находится белок (рис. 10).

Четвертичная структура характеризуется расположением субъединиц в макромолекулярном комплексе.

Изменение первичной структуры белков может быть вызвано химическими веществами, которые разрывают пептидные связи или замещают одну аминокислоту на другую. Такое действие, как правило, необратимо. Но чаще всего взаимодействие лекарственных веществ с аминокислотными остатками приводит к сдвигам вторичной и третичной структур, но не первичной.

Аминокислотные остатки в белковой молекуле-рецепторе, как известно, содержат полярные и неполярные группировки, которые детерминируют образование полярных или неполярных связей между ними и фармакологическими препаратами.

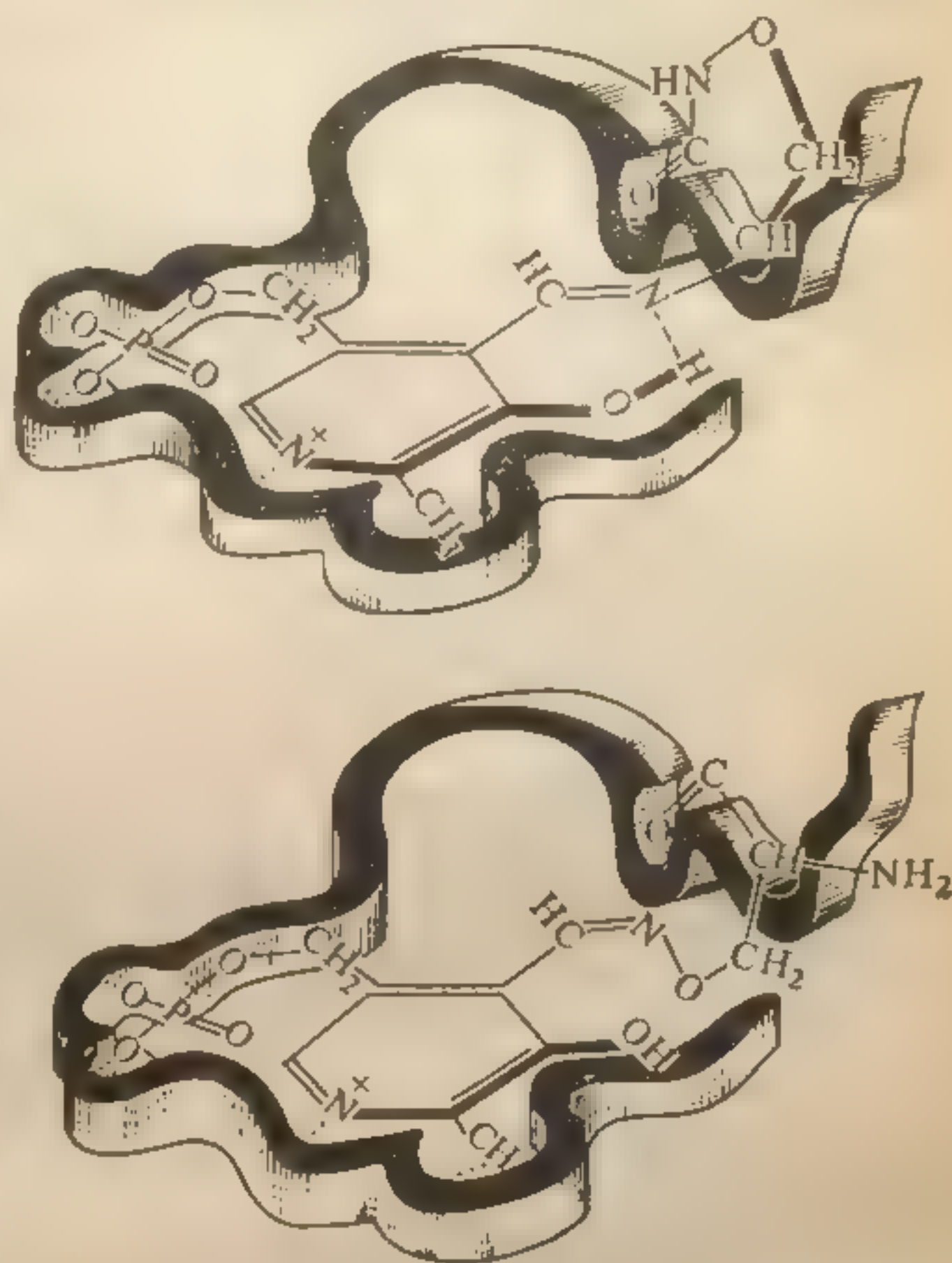


Рис. 8. Стадии взаимодействия циклосерина с активным центром фермента



Полярные группы ( $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $\text{COO}^-$ ,  $-\text{NH}_3^+$ ,  $=\text{O}$ ) обеспечивают образование главным образом ионных и водородных связей.

Аполярные группы (водород, метильные, циклические радикалы и другие) образуют гидрофобные связи с низкомолекулярными фармакологическими агентами.

Выделение рецептора в чистом виде, определение его химической структуры и функциональных групп — первейшая задача в исследовании комплементарных взаимоотношений с фармакологическими

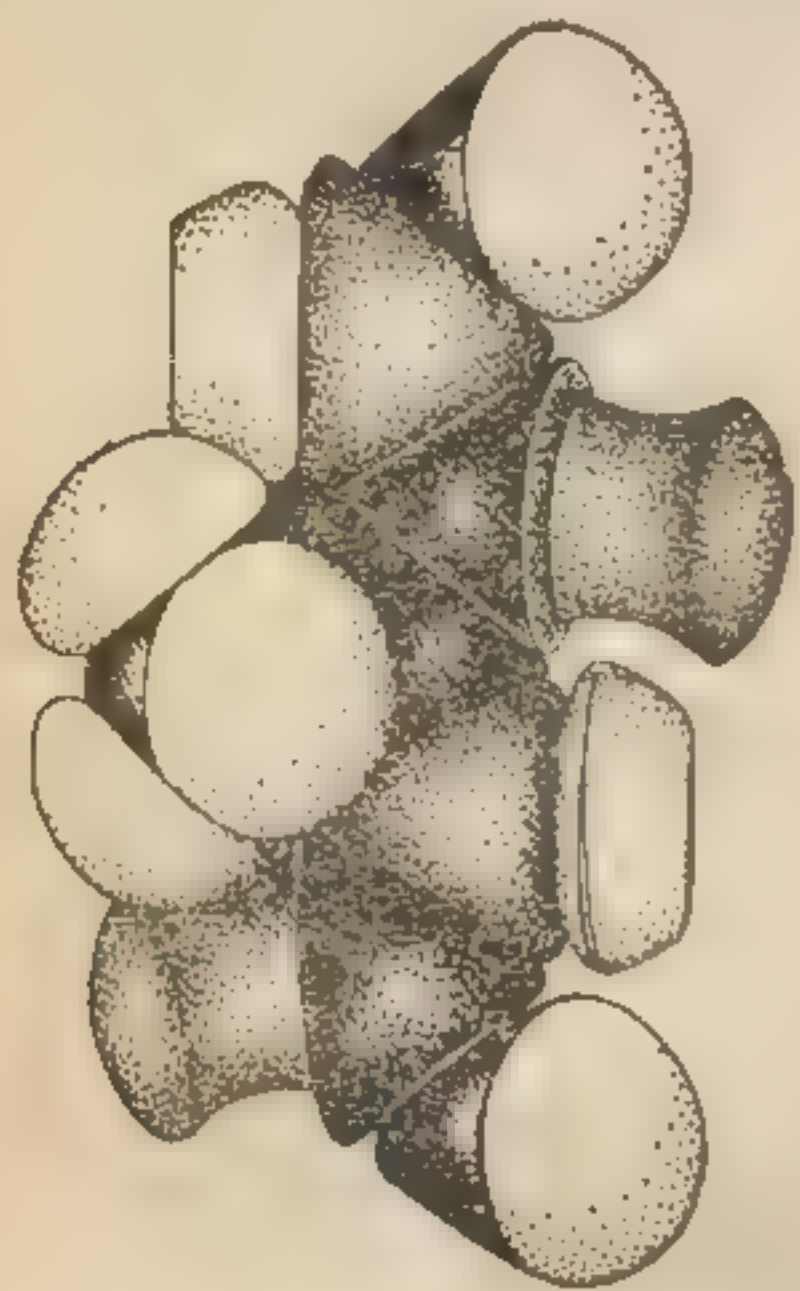


Рис. 9. Модель распрямленной полипептидной цепи



Рис. 10. Пространственная структура макромолекулы

скими препаратами. «Разборка» и последующая «сборка» рецептора с восстановлением его функции — один из важных моментов в цепи доказательств фармакологической рецепции. В этих условиях удастся выяснить роль того или иного компонента (если молекулы рецептора не мономолекулярны) во взаимодействии с фармакологическим партнером и создать модель первичной фармакологической реакции, которая может быть подвергнута строгому контролю с привлечением математического аппарата.

#### § 4. Роль дисульфидной связи во взаимодействии лекарственного вещества с рецептором

Конформации макромолекул стабилизируются часто и дисульфидными связями, которые также могут быть местом «атаки» фармакологических препаратов с образованием комплексов. Поскольку конформационные переходы белков имеют существенное значение во взаимодействии с лекарственными препаратами, видимо, целесообразно обсудить роль дисульфидной связи в этом процессе.

Так как дисульфидная связь стабилизирует белковую структуру и в связи с этим ответственна за физические и биологические свойства протеинов, влияние на нее некоторых фармакологических препаратов может вызывать множественные изменения как в структуре, так и в функции белков-рецепторов.

В биохимии уже давно известны различные реагенты на сульфидные группы, которые с успехом применяются для исследования



особенностей их локализации и строения белков. К ним относятся *n*-хлормеркурийбензоат, моноиодацетат, меркаптоэтанол, дитиотриетол и многие другие. Кроме того, в фармакологии используются препараты, влияющие на сульфгидрильные группы и связи, которые обладают самым различным спектром биологического действия. Наиболее существенными из них являются ртуть-, висмут- и мышьяксодержащие агенты.

Для восстановления функции сульфгидрильных групп в функциональных группах белков и для связывания соединений мышьяка, ртути и висмута в организм вводят соединения, несущие избыток сульфгидрильных групп, типа 2,3-димеркаптопропансульфонат натрия и др.

Дисульфидные связи могут располагаться как интермолекулярно, так и соединять поперечными связями различные молекулы, образуя межмолекулярные сшивки, которые определяют конформационные особенности молекул белков.

Дисульфидная связь — наиболее лабильная ковалентная связь, которая присутствует в белках. Она сравнительно легко может восстанавливаться и окисляться до продуктов деградации. Эта связь может подвергаться сульфгидрильному обмену, щелочному гидролизу, разрушению радиацией, механическому перемещению и влиянию лекарственных препаратов и ядов. Ее лабильность облегчает химическую модификацию белка-рецептора.

На основании многочисленных исследований в молекулярной биологии был сделан вывод, что при взаимодействии с сульфгидрильными группами следует учитывать следующие условия: время, pH, концентрации фармакологических веществ.

В зависимости от локализации дисульфидной связи и от растворителей, в которых находятся белки, в их структуре можно обнаружить значительные изменения при разрыве дисульфидной связи. В частности, восстановление белков, имеющих интермолекулярные дисульфидные связи, обычно сопровождается потерей их биологической активности. Это можно сказать о рибонуклеазе,  $\alpha$ -амилазе,  $\alpha$ -глиадине.

Первичная структура белка определяет положение дисульфидных сшивок в молекулах. Это положение чрезвычайно важно для молекулярной фармакологии, так как создается возможность направленного изучения места «атаки» фармакологических препаратов, влияющих на дисульфидные и сульфгидрильные связи и группы.

Дисульфидная связь, как стало известно в последние годы, содержится в Н-холинорецепторах на некотором расстоянии от анионного пункта и отсутствует в М-холинорецепторах. Реагенты типа  $^3\text{H}$ -4-(N-малеимид)- $\alpha$ -бензилтриметиламин могут специфически связываться с SH-группами восстановленных рецепторов, в то время как неспецифическое связывание обусловлено избытком сульфгидрильных групп биологических мембран. Выделение рецепторного белка после ингибирования неспецифических SH-групп и электрофорез в полиакриламидном геле позволили обнаружить зону с высокой радиоактивностью, молекулярная масса которой соответствовала 42 000.

Таким образом, дисульфидная связь может иметь значение при различных взаимодействиях лекарств с рецепторами, что следует учитывать при оценке влияния фармакологических препаратов на эту реакционную группу.



## § 5. Некоторые методические подходы к исследованию рецепторов

Одним из перспективных направлений в изучении рецепторов является присоединение спин-меток в различных участках молекул с последующей регистрацией спектров ЭПР. Подобные подходы плодотворно разрабатываются Ингрэмом (1972), Г. И. Лихтенштейном (1974) и др. Большой интерес представляет «посадка» на белок меток гидрофобных зондов, при помощи которых можно

судить не только о конформации макромолекулы, но и о характере связей фармакологического препарата с белковой матрицей. Конкуренция стероида с гидрофобным зондом за место «посадки» позволила (И. В. Сергеев и др., 1974) сделать вывод о гидрофобном характере взаимодействия гормона с белком.

В последнее время предпринимаются попытки изучения конформационных изменений холинэстераз и холинорецепторов методом спиновых меток (Р. С. Агабекян, 1975).

Piette, Grover (1973) изучали взаимодействие лекарственных веществ с рецепторами и с мембранами, содержащими рецепторы, используя спин-меченые фармакологические препараты. Методом двойных меток были идентифицированы участки мембран, содержащие рецепторы для канцерогенов и некоторых гормонов.

Перспективным подходом исследования рецепторов, ферментов, субстратов, коферментов, ингибиторов и других молекул является метод биоспецифической адсорбционной хроматографии. При помощи этого метода удастся выявить и исследовать фармакологическое вещество (лиганд), которое специфически взаимодействует с рецепторами.

Лиганд должен обладать способностью, во-первых, специфически и, во-вторых, обратимо взаимодействовать с рецептором.

Сила взаимодействия лиганда и какого-либо биополимера выражается константой диссоциации  $K_d$  (см. с. 79).

Для биоспецифической адсорбционной хроматографии эффективная адсорбция биополимера на матрице обеспечивается в случае, если  $K_d$  достаточно низка ( $\leq 10^{-4}$  моль·л<sup>-1</sup>).

Этот метод обладает широкими возможностями для выделения и идентификации рецепторов пептидных гормонов, стероидов, ферментов и субстратов, иммуноглобулинов, разделения Т- и В-лимфоцитов.

Весьма интересным направлением в молекулярной фармакологии рецепции является построение молекулярных моделей рецептора и выяснение возможностей взаимодействия препаратов с ним.

Так, в частности, Смайтисом в 1971 и 1972 гг. был опубликован ряд работ, посвященных построению молекулярных моделей биологически активных соединений, их партнеров и комплексов.

На рис. 11 представлена модель ацетилхолина, на которой показана липофильная сторона, выделен выпуклый карбонильный кислород и плоский эфирный кислород.

Одна из гипотез Смайтиса основывается на том, что АТФ прочно связывается с белками, выделяемыми из синапсом мозга посредством глутамината. На основании дальнейших работ Смайтис построил молекулярную модель взаимодействия атропина с мускариновым рецептором (рис. 12).

Некоторые другие модели взаимодействия лигандов с рецепторами будут рассмотрены при обсуждении частных вопросов холино-, адрено-, серотонино- и других видов рецепции.

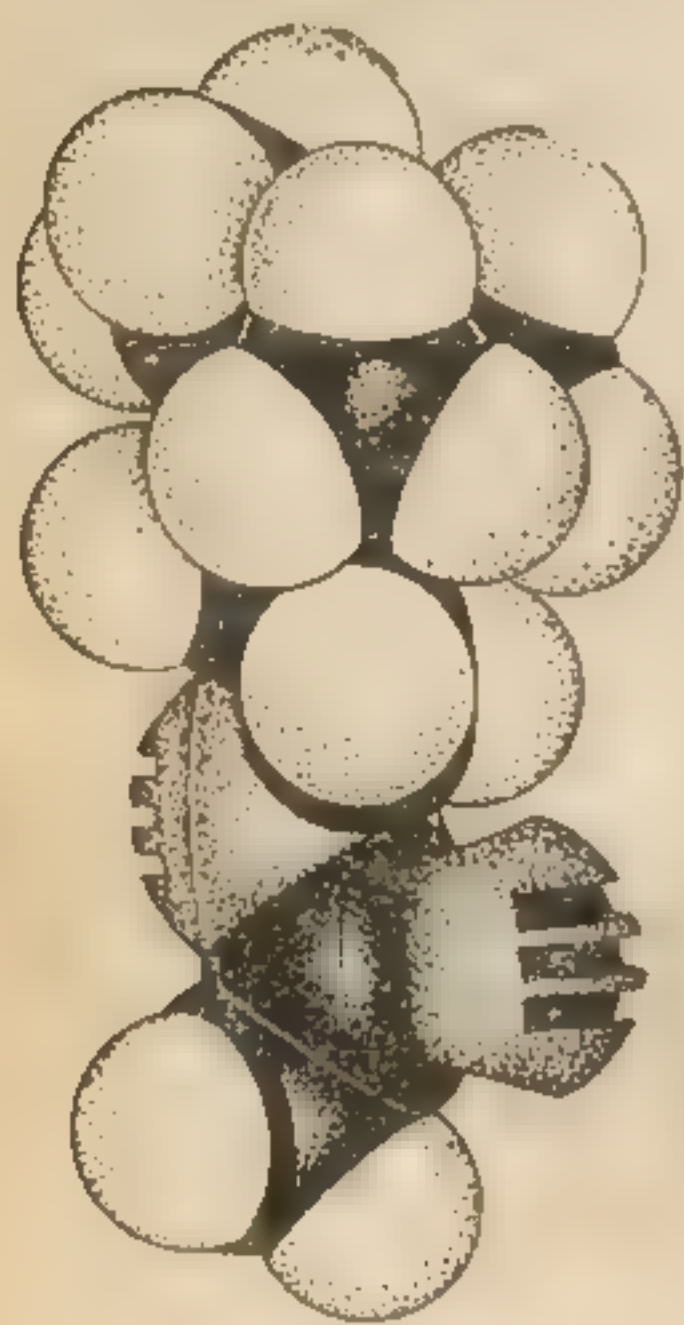


Рис. 11. Молекулярная модель ацетилхолина (Смайтис, 1971)



Рис. 12. Модель взаимодействия атропина с мускариновым рецептором

## § 6. Структура фармакологического препарата

Проблема рецепции фармакологического препарата является одной из основных в фармакологии. Известно, что препарат должен обладать способностью связываться с рецептором. Кроме того, препарат должен обладать способностью проникать в организм. Она образует преадаптацию. Группы фармакологически активных веществ, способные влиять на водородные связи, сдвигают равновесие в сторону образования водородных связей.



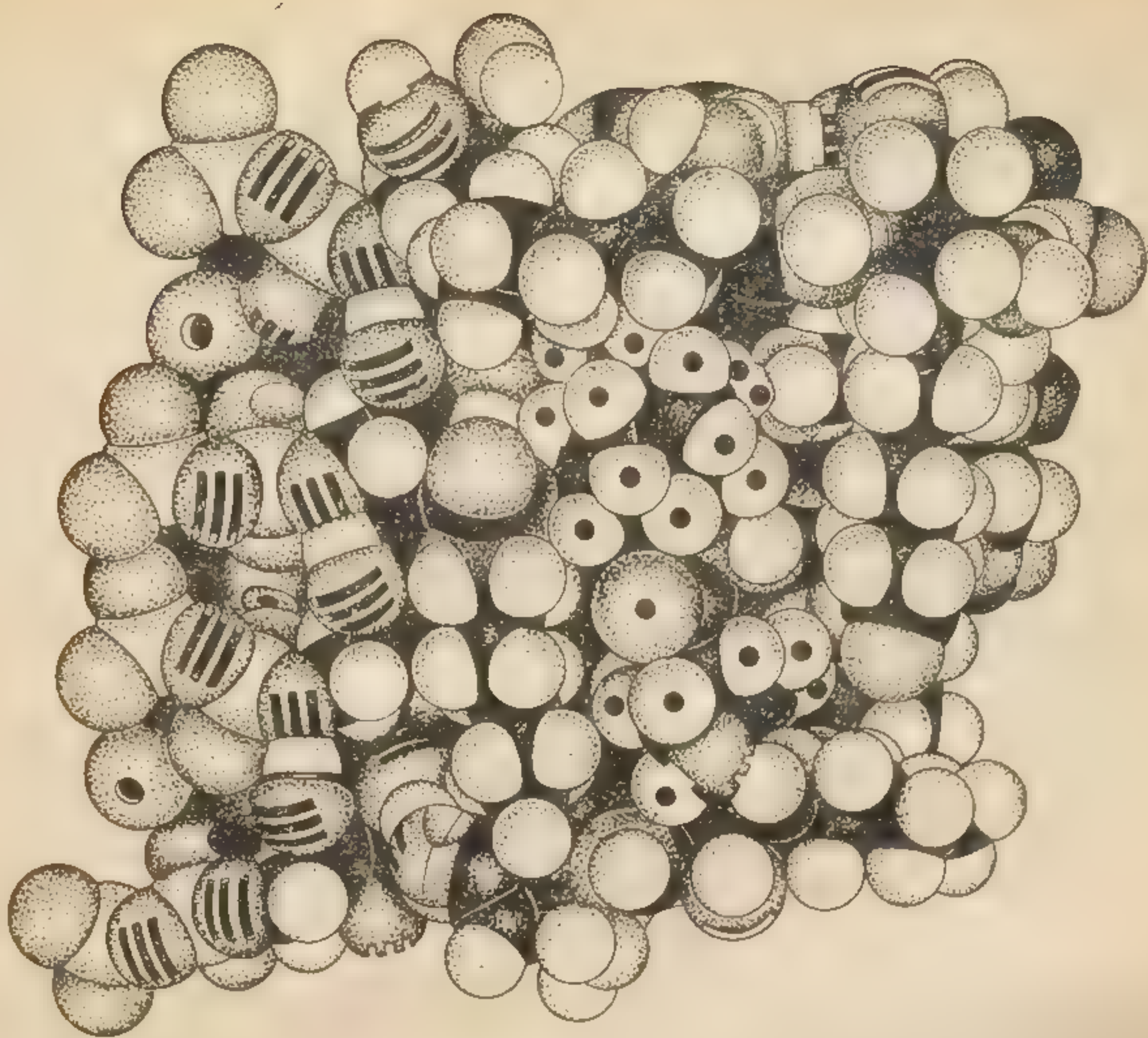
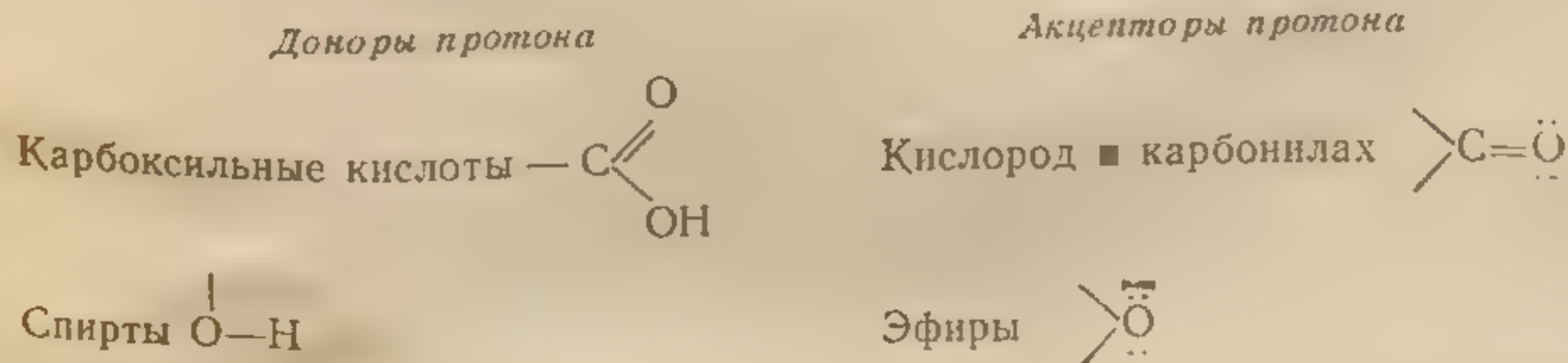


Рис. 12. Модель взаимодействия атропина с мускариновым рецептором

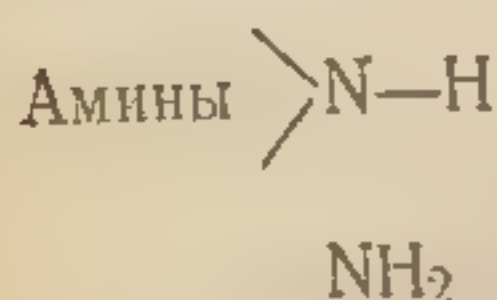
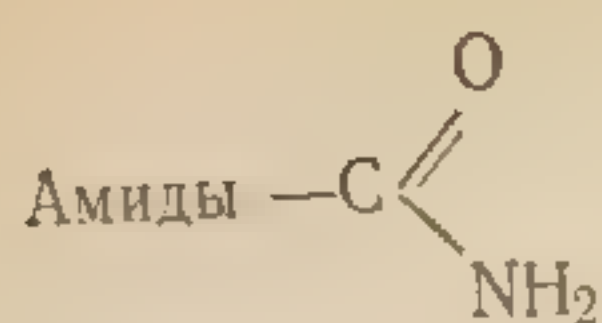
## § 6. Структура воды и рецепция фармакологических препаратов

Проблема рецепции фармакологических препаратов не может развиваться изолированно от изучения свойств воды, которая окружает рецептор. Известно, что белки связывают большое количество воды, порядка нескольких молекул на остаток аминокислоты. Кроме того, вода может связываться с молекулами лекарственных веществ. Она образует преимущественно водородные связи, но иногда имеет место образование и полярных связей.

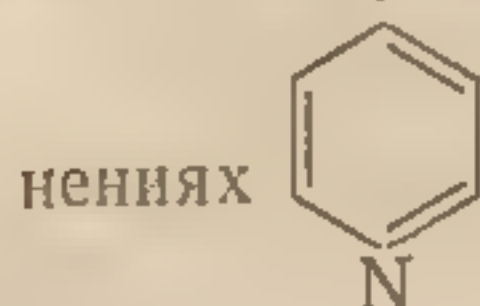
Группы фармакологических препаратов, которые могут образовывать водородные связи, следующие:







Азот в гетероциклических соеди-



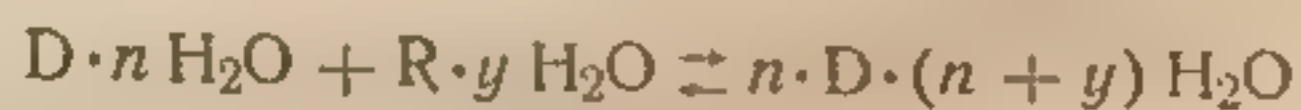
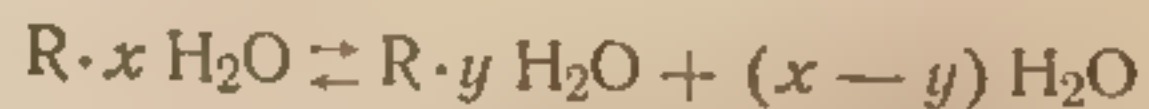
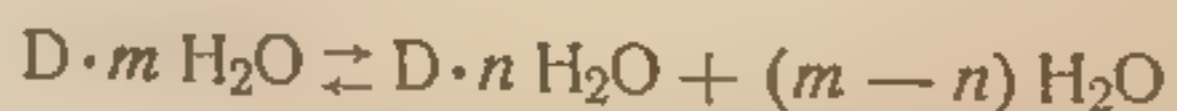
При взаимодействии воды с неполярными боковыми цепями белков необходимо учитывать два фактора: влияние белка на структуру воды ■ влияние воды на структуру белка. Разделение неполярных групп ■ водном окружении направлено на выход воды и ассоциацию с каждой другой молекулой. Этот процесс освобождает некоторые молекулы воды из «айсбергов» вокруг индивидуальных неполярных групп с возрастанием энтропии и уменьшением свободной энергии системы растворитель — раствор.

Распределение неполярных радикалов белка в водной среде приводит к структурированию молекул воды и заметному понижению энтропии системы, что термодинамически невыгодно. Эти неполярные радикалы, стремясь избежать контактов с водой, сближаются на такие расстояния, что возникающие при этом вандерваальсовы силы становятся заметными. Неполярные несмачиваемые водой гидрофобные группы в воде сближаются и детерминируют гидрофобное связывание.

Структурирование воды влияет не только на третичную структуру макромолекул, но может оказывать действие на скорость ферментативных реакций. В частности, известно, что гидролиз пенициллина или дегидратация 5,6-дигидро-6-гидроксидиоксиуридина значительно ускоряются, когда эти процессы протекают во «льду». Это ускорение объясняется частично за счет возрастания концентрации реагентов при замерзании, а также и способности «льда» функционировать в качестве общего катализатора.

Однако дискуссионным остается вопрос, происходит ли изменение третичной структуры ферментов или модифицируется структура растворителя.

Реакцию взаимодействия лекарственного препарата (D) и рецептора (R) с участием воды можно представить следующими уравнениями:



В гидролитических реакциях вода может быть одним из субстратов, но в кинетических уравнениях соответствующие члены опускаются, так как концентрация воды постоянна и относительно высока (Л. Уэбб, 1966).

Если вода включена в последовательность гидролитических реакций, то ее необходимо учитывать при записи кинетических уравнений, как это имеет место при гидролизе ацетилхолинэстеразой:







где EH — фермент ацетилхолинэстеразы; S — субстрат ацетилхолин; ES' — ацетилированный фермент;  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$  — константы скорости.

Большой класс фармакологических препаратов, имеющих полярные группы и длинные углеводородные цепи, взаимодействует с молекулами воды на границе раздела вода — липид. За счет неподеленных пар электронов атомов азота или кислорода, которые формируют эти полярные группы, образуются водородные связи с молекулами воды. Углеводородный «хвост» мог бы перейти в водную фазу при условии разрыва водородных связей с молекулами воды, что энергетически невыгодно. Таким образом, молекула фармакологического препарата будет иметь наименьшую энергию, располагаясь на границе раздела вода — липид в биологической мембране. Его гидрофильные (полярные) группы в результате образования водородных связей с водой будут направлены в водную фазу, а гидрофобные компоненты легко проникают в липидный слой, где взаимодействуют с родственными группировками.

Forslind и Kjellander (1975), исходя из свойств структуры воды, известных длин связей и ориентации водородносвязанных молекул воды, разработали модели систем вода — лецитин и вода — лецитин — холестерин. Атомы кислорода эфирной и фосфатной групп лецитина гидрофильны и могут образовывать водородные связи с межмолекулярной водной фазой. Углеводородные цепи остатков лецитина обладают сильными гидрофобными свойствами и образуют фазу, отталкивающую воду. Положительно заряженная группа холина в лецитине гидрофобна, но повернута к водной фазе и способна организовывать внутримолекулярную воду таким образом, что образуется внутренняя интерфаза, стабилизирующая структуру воды. Единственная полярная группа — OH в молекуле холестерина ориентируется к полярной части лецитина. Молекула лецитина замещает центральную молекулу воды в тетраэдре. При этом положительный заряд азота притягивает пару электронов ближайших молекул воды (рис. 13), ориентируя их протоны по направлению решетки воды. Сильно гидрофобные группы — CH<sub>3</sub> холина помещаются в полостях, образованных водой.

Концентрация фармакологических препаратов на границе слоя липид — вода, как это наблюдается в биологической мембране, по всей вероятности, одна из причин сдвигов поверхностного натяжения и, как следствие этого, изменения проницаемости биологических мембран. К подобным фармакологическим препаратам отно-

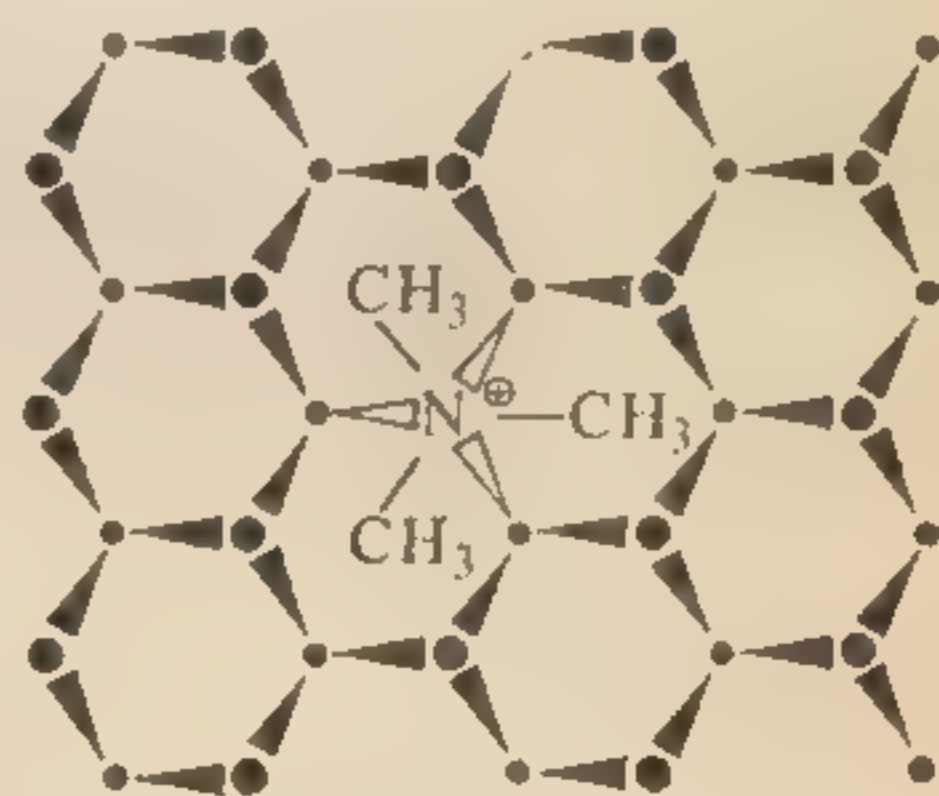


Рис. 13. Гексагональные кристаллические решетки воды с включенной в них холиновой группировкой



сятся прежде всего многочисленными вегетотропными средствами, имеющими катионные группы  $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ , такие, как ацетилхолин, карбахолин, ганглиоблокаторы, миорелаксанты.

На основании изложенного можно считать, что при оценке молекулярных механизмов действия лекарственных веществ на рецепторы в водной фазе и на границе раздела вода — липид в биологической мембране необходимо принимать во внимание различные структурные перестройки, существенно влияющие на динамику комплекса лекарственное вещество — рецептор.

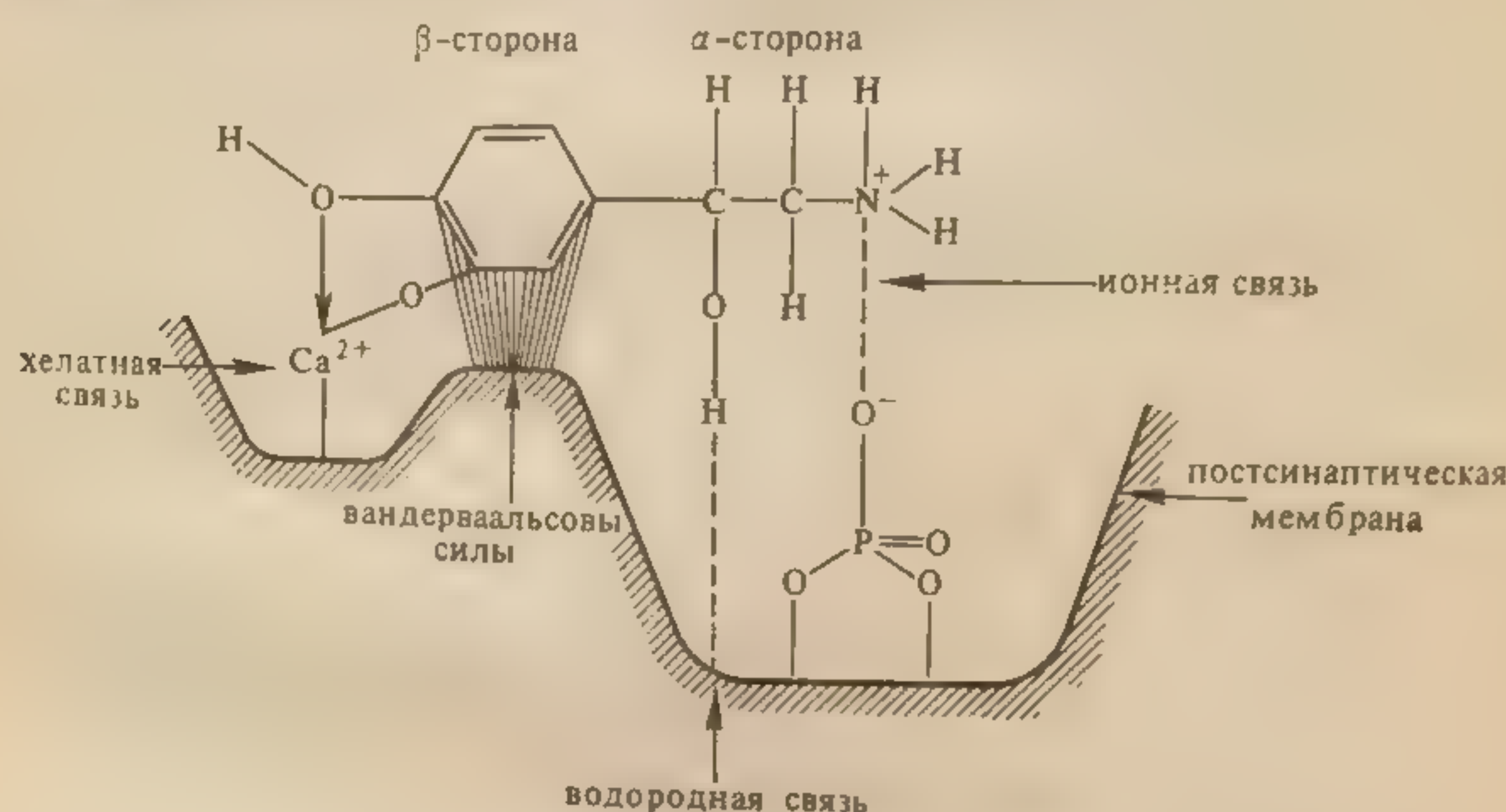


Рис. 14. Связь норадреналина с гипотетическим рецептором

## § 7. Физико-химические аспекты лекарственной рецепции

Ориентация фармакологического препарата в рецепторном поле происходит при оптимальной комплементарности партнеров. Это достигается, когда энергия связи более 42 кДж/моль.

Взаимодействие фармакологического агента с рецептором представлено на рис. 14.

Этот процесс протекает в три этапа: притяжения, ориентации и фиксации.

По характеру взаимодействия с рецепторами все лекарственные вещества можно подразделить на следующие группы:

1. Агонисты, которые посредством прикрепления к рецептору индуцируют эффективное конформационное изменение.

2. Антагонисты, которые, прикрепляясь к рецептору, не индуцируют эффективного конфигурационного изменения.

3. Неполные (частичные) агонисты, которые посредством фиксации с рецептором могут индуцировать эффективное конфигурационное изменение, но в меньшей степени, чем индуцируется агонистом.

Mautner (1967) считает, что поскольку биохимики имеют дело с изоферментами, то медицинским химикам и фармакологам следует ставить вопрос об изорецепторах.



Концепция об изорецепторах представляется полезной для объяснения, почему имеется такая разновидность клеточной специфичности и органной специфичности и чувствительности к фармакологическим препаратам.

Заслуживает внимания концепция о модуляции рецепторов различными факторами, что подтверждает точку зрения о динамической структуре рецептора, способной изменяться и зависимости от условий окружающей среды и действия фармакологических препаратов.

Об индукции синтеза рецепторов гормонами и взаимно превращенных ядерных и цитоплазматических рецепторов с участием клеточных факторов, трансформирующих рецепторы стероидов, сообщили Reel, Shih (1975). Кроме того, вполне допускается наличие и крови млекопитающих так называемых рецепторных модуляторов, способных трансформировать  $\alpha$ -адренорецепторы в  $\beta$ -адренорецепторы. Роль модуляторов, по мнению Smythies, могут выполнять или простагландины, или фармакологические препараты, локально повышающие их синтез. В связи с этим возникает вопрос, действительно ли все рецепторы детерминированы генетически и реализуются как генетическая программа в процессе развития организма и специфические молекулярные структуры, комплементарные агонистам и антагонистам, или в организме имеются другие приспособительные механизмы, которые «собирают» и «разбирают» рецепторы «по мере надобности». Этими факторами могут быть скорее всего гормоны, простагландины и другие молекулы, действие которых направлено на поддержание постоянства внутренней среды организма.

По-видимому, в клетках органов-мишеней по аналогии с медиаторами имеются реактивные биохимические молекулярные системы, способные различать информирующую молекулу стероида и расшифровывать первоначальный гормональный сигнал. Определенная аналогия между гормонами и медиаторами в системе рецепции (особенно пептидных гормонов и катехоламинов) свидетельствует о существовании единой системы регуляции гомеостаза, осуществляемой по общему механизму (П. В. Сергеев и др., 1971; Р. Д. Сейфулла и В. В. Лакин, 1975).

Вопрос о взаимоотношениях гормонов и медиаторов на уровне рецепторов интересен еще и потому, что между ними существует двусторонняя функциональная связь: гормоны регулируют биосинтез и метаболизм медиаторов, а медиаторы в свою очередь действуют на биосинтез, освобождение и метаболизм гормонов и рилизинг-факторов.

Поскольку при взаимодействии фармакологического препарата с рецептором структурная комплементарность обеспечивается и физико-химическими свойствами самих лекарственных средств, то следует остановиться на наиболее важных из них, которые имеют прямое отношение к проблеме рецепции.

Среди физико-химических свойств лекарственных веществ, влияющих на их взаимодействие с рецепторами, прежде всего можно выделить величину молекулы, от которой зависит кинетика проникновения через биомембраны. С увеличением размеров молекулы повышается обычно ее гибкость и возможность образования вандерваальсовых связей с макромолекулярным партнером. От того, в какой изомерной форме находится лекарственное средство, зависит его фармакологическая активность. В случае низкомолекулярных веществ (например, 1,2-дихлорэтилена) стерические различия молекулярного строения слабо отражаются на особенностях фармакологического действия препаратов.

Структурно-специфический эффект наступает при применении фармакологических агентов с большой молекулярной массой, как,



например, медиаторы нервной системы (160—190). Среди них адреналин и ацетилхолин содержат по 26, серотонин — 25, а норадреналин — 23 атома. Чем жестче конформация молекулы рецептора, тем сильнее различие в действии стереоизомеров.

Первостепенное значение для резорбции фармакологических препаратов имеет их растворимость в воде, которая свидетельствует не только о виде, но и количестве полярных группировок в их молекулах. В противоположность этому растворимость фармакологических препаратов в липидах говорит о меньшей полярности соединений.

Между растворимостью в воде и липидах существует обратно пропорциональная зависимость. В частности, чем выше коэффициент липид — вода, тем легче фармакологический препарат проникает через биологические мембраны, ■ именно через их липидный слой.

## § 8. Теории фармакологической рецепции

В основе действия фармакологически активных веществ лежит физико-химический процесс адсорбции со всеми вытекающими отсюда последствиями. Анализ изотерм адсорбции Ленгмюра и применение основных уравнений, при помощи которых описывается изотерма, позволило получить количественные характеристики адсорбции (см. с. 33).

Следует отметить, однако, что названные закономерности в известной степени усложняются из-за метаболизма лекарственных веществ, дополнительного перераспределения и другими причинами. Рассмотрим вкратце основные гипотезы механизма действия лекарственных веществ.

1. Простая оккупационная теория была предложена Кларком. По мнению Кларка, эффект, вызванный каким-либо лекарственным веществом, пропорционален величине поверхности рецепторов, занятых этим веществом. Максимальный эффект достигается тогда, когда все рецепторы заняты лекарственным веществом. Однако не во всех случаях связывание лекарственных средств с субстратом сопровождается биологическим эффектом.

2. Учитывая этот факт, Ариенс предложил сложную оккупационную теорию, согласно которой лекарственное вещество должно обладать двумя независимыми характеристиками — сродством к рецептору и внутренней, или собственной, активностью. Внутренняя активность, по терминологии Ариенса, — мера способности такого комплекса вызывать положительную биологическую реакцию.

3. Дальнейшая разработка названных положений была предпринята Стефенсоном. Он обнаружил, что в ряде случаев активность фармакологических препаратов непропорциональна числу занятых рецепторов. Лекарственные вещества, которые вызывают максимальную для данного органа биологическую реакцию при очень малом числе рецепторов, относятся к высокоэффективным.

4. Оригинальной представляется концепция Пейтона. По его мнению, степень насыщения рецептора лекарственным веществом не имеет существенного значения, а биологический эффект определяется скоростью образования комплекса лекарственное вещество — рецептор. На основании исследований Пейтон считает, что если лекарственное вещество долго не задерживается на рецепторе, то оно является агонистом, ■ если медленно диссоциирует из комплекса с рецептором, то оно будет антагонистом.

5. Инг высказал предположение, что комплекс лекарственное вещество — рецептор может находиться в активированном переходном состоянии, которое и определяет фармакологическое действие. Такие активированные комплексы, образующиеся в различных реакциях, характеризуются высоким уровнем энергии и, следовательно, недолговечны. Они либо быстро диссоциируют, либо превраща-



ются ■ комплексы (устойчивые) с небольшим запасом энергии, которые ингибируют рецепторы.

Эти концепции, безусловно, ■ определенный период развития фармакологической науки были полезны и дали много ценной информации, касающейся органических взаимоотношений при взаимодействии с лекарственными веществами. Были выявлены интересные закономерности связи химической структуры с биологическим действием в ряду холиномиметиков, холинолитиков и других препаратов.

В соответствии с теорией антагонизма лекарственных препаратов, если рецептор занят, то он не может присоединить молекулу другого вещества. Однако если отдельные участки в молекуле лекарственного вещества или рецептора имеют сходство для распространенных низкомолекулярных компонентов биологического раствора (с неорганическими ионами или молекулами воды), то молекулы фармакологического препарата ■ рецептора не смогут взаимодействовать с этими участками. Допустим, что лекарственный препарат представляет собой катион, а анион — рецептор. Тогда ■ случае оккупации анионного участка ионами щелочного металла, например  $\text{Na}^+$ , доступ к рецептору будет стерически затруднен, поскольку присутствие ионов  $\text{Na}^+$  вызовет электростатическое отталкивание лекарственного препарата-катиона.

Вероятность нахождения фармакологического препарата ■ пределах силового поля рецептора может быть рассчитана по закону Больцмана. Если допустить, что молекула препарата движется однозначно либо ■ рецептору, либо от него, то она будет передвигаться до тех пор, пока ее собственная кинетическая энергия будет сбалансирована с потенциальной энергией новой локализации. Фармакологический препарат будет иметь возможность выйти за пределы силового поля рецептора лишь в том случае, если его кинетическая энергия будет больше потенциальной энергии поля. Частоту движения молекул можно рассчитать по кинетической энергии из уравнения Больцмана:  $f = e^{U/RT}$ . Подставив значения  $U = -41,8$  кДж/моль, получается возможность выхода молекулы из силового поля, равная  $10^{-7}$  по отношению ■ вероятности ее возвращения ■ силовое поле.

Эти взаимоотношения определяют энергетику комплекса лекарство — рецептор и скорость его диссоциации. Абсолютная скорость диссоциации равна скорости свободной диффузии, помноженной на коэффициент вероятности. Относительная продолжительность существования молекул лекарств в силовом поле рецептора указывает на образование эффективных комплексов. Расчет времени реализации всех конформационных перестроек в комплексе лекарство — рецептор дает результат  $4 \cdot 10^{-9}$  с. Время образования дополнительных связей составляет  $10^{-9}$ — $10^{-11}$  с. Если свободную энергию при равновесном состоянии комплекса и правильной конформации примем за  $-41,8$  кДж/моль, а снижение ее при искаженной конформации за  $-8,4$  кДж/моль, то продолжительность жизни комплекса будет составлять  $10^{-8}$  с (при условии, что скорость ассоциации будет определять возможность максимальной диффузии). В действительности скорость ассоциации меньше, ■ продолжительность жизни комплекса дольше. Исключение составляют те случаи, когда рецептор глубоко замаскирован ■ «расщелинах» рецепторной поверхности или когда фармакологический препарат — сильно асимметричная молекула. В этом случае сродство между партнерами реакции нарушается.

Скорость ассоциации существенно не изменяется при увеличении притяжения между молекулами фармакологических препаратов и рецепторами ■ понижается при наличии сил отталкивания между ними. Скорость имеет тенденцию к снижению в присутствии связанной с рецептором воды или ионов за счет возрастания энергии активации. Освобождение препаратов из комплекса происходит при приобретении ими кинетической энергии, превосходящей по величине потенциальную энергию силового поля. Скорость диссоциации комплекса равна по величине скорости угасания свободной диффузии, помноженной на фактор Больцмана. Продолжительность жизни комплекса фармакологический препарат — рецептор достаточна для различного рода неблагоприятных столкновений комплекса с другими соединениями и конформационных перестроек.



## § 9. Гипотеза о роли рецепторов в передаче информации в клетку

Е. А. Либерман (1975) сформулировал гипотезу о роли мембранных рецепторов, биологических мембран и мембранных липидов в передаче информации в клетку при взаимодействии с экстрацеллюлярными химическими агентами, оказывающими регулирующее влияние на внутриклеточный метаболизм. При воздействии фармакологически активного вещества меняется конформация белка-рецептора, а при диссоциации комплекса восстанавливается его первоначальная конформация. При изменении конформации рецептора к его новой поверхности присоединяется соответствующая молекула гликолипида или фосфолипида, либо несколько таких молекул. Такой комплекс взаимодействует с универсальным белком памяти. Последний может получить или отдать электрон. В случае, если он — АТФ-аза, то фермент гидролизует соответствующий трифосфат. После этого за счет освобождения энергии с помощью специального устройства белок памяти захватывает молекулу липида любого рецептора. Этот липид указывает на то, что на рецепторе «сидела» определенная молекула. Либерман считает, что этот способ чрезвычайно экономичен и может осуществляться на молекулярной вычислительной машине. При этом для записи информации с любого из рецепторов используется минимальная порция свободной энергии  $\sim 5-10 \text{ kT}$  (одного электрона или распада одной молекулы трифосфата). Наиболее вероятно, что к белкам памяти относятся АТФ-аза, УТФ-аза, цитохром  $b_5$  и др.

## § 10. Проблемы фармакологической инженерии

Конструирование новых более активных и менее токсичных лекарственных веществ является предметом фармакологической инженерии; ее цели и задачи приведены в табл. 6.

Создание молекулярных моделей в лаборатории и создание программ алгоритмов несоизмеримо дешевле, чем многочисленные эксперименты на животных, тем более, что конечный эффект в большинстве случаев неизвестен.

Изучение комплексообразования с молекулой выделенного рецептора, точнее, исследование первичной фармакологической реакции, намного информативнее и дешевле, чем многочисленные исследования на животных.

Таким образом, дальнейшее изучение фармакологической рецепции и внедрение принципов фармакологической инженерии в значительной степени поможет разработать основы конструкции новых лекарств.

## ГЛАВА 2

### АЦЕТИЛХОЛИН. ХОЛИНОРЕЦЕПТОРЫ. ХОЛИНЕРГИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА

Изучение взаимодействия рецепторов с медиаторами нервного импульса проводится преимущественно фармакологическими методами. При этом, как правило, результатом, наблюдаемым ■



эксперименте, является тот или иной физиологический эффект, который связан с первичным актом — взаимодействием рецептора с медиатором цепью событий. Поэтому при применении синтетических аналогов медиатора иногда бывает трудно установить, на

Таблица 6

| Задача                                      | Цель  | Конструкция лекарств  |
|---|---|---|
| Теоретическая разработка                    | Поиск комплементарных партнеров   | Создание программы алгоритмов. Уточнение роли заместителей. Построение молекулярных моделей комплекса рецептор — препарат. Предсказание предпочтительных агонистов и антагонистов |
| Синтез лекарственных веществ                | Выявление оптимальных заместителей  | Изучение физико-химических характеристик лекарств. Расчеты наиболее вероятных «точек» взаимодействия с биосубстратами. Анализ полярных и апольярных реакционных групп             |
| Анализ первичной фармакологической реакции  | Экспериментальная проверка комплементарности к рецептору  | Исследование природы комплекса. Характеристика образовавшихся связей и констант связывания. Конформационные перестройки. Роль модуляторов рецепторов                              |
| Фармакокинетический анализ                  | Изучение распределения, путей выделения лекарственного вещества из организма. Коррекция доз. Исследование токсичности и пр. | В зависимости от условия направленная регуляция длительности пребывания лекарства в организме   |
| Фармакодинамический анализ                  | Установление «точки» приложения в организме   | Анализ вторичных фармакологических реакций. Выявление основных фармакологических свойств  |
| Клинико-фармакологический анализ            | Коррекция фармакологических свойств, доз у человека   | Уточнение особенностей видовой чувствительности. Широта терапевтического действия. Анализ побочных эффектов. Создание оптимальной лекарственной формы                             |
| Серийное производство лекарственных веществ | Внедрение в аптечную сеть   | Анализ эффективности нового лекарственного препарата по данным статистики. Экономическая целесообразность   |

какие звенья этой цепи действует введенное вещество. Для этих случаев С. В. Аничков (1952) вместо терминов «холино-» и «адренорецепторы» предлагает пользоваться терминами «холино-» и «адренореактивные системы».

Под термином «холинорецептор» (ХР) в книге будет подразумеваться белковая макромолекула, способная избирательно взаи-



модействовать с ацетилхолином (АХ), причем это взаимодействие вызывает кратковременное изменение физико-химических свойств мембраны, в которую ХР встроен. Образовавшийся при взаимодействии комплекс ХР—АХ быстро распадается и выделившийся АХ подвергается ферментативному гидролизу холинэстеразой (ХЭ). Эти два процесса настолько тесно связаны друг с другом, что даже высказывались предположения, что ХР и ХЭ представляют собой одну макромолекулу с двумя активными участками (Župančič, 1953) \*. Однако, когда ХР удалось выделить в свободном состоянии (см. с. 115), было установлено, что ХР и ХЭ — две различные белковые макромолекулы. Этим одновременно была опровергнута гипотеза Чагаса о мукополисахаридной природе ХР. Ближайшая задача молекулярной фармакологии — определение состава и строения ХР и изучение его взаимодействия с холинергическими соединениями на чисто молекулярном уровне. Однако не менее важным для молекулярной фармакологии представляется изучение ХР фармакохимическими методами, путем направленного синтеза серий холинергических соединений и сопоставления их структуры с фармакологическими свойствами. Медиатор холинергических синапсов  $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+\text{Me}_3$  не содержит подвиж-

ных атомов водорода, поэтому АХ в водных растворах нацело ионизирован, имеет положительный заряд на азоте при любых рН. Из-за наличия сложноэфирной связи он легко подвергается гидролизу (щелочному и ферментативному). У АХ главной активной группой является  $\text{N}^+\text{Me}_3$ . Ионное (электростатическое) притяжение этой группы к анионному центру ХР представляет собой наиболее дальнотействующее и сильное межмолекулярное взаимодействие. Необходимую прочность ионной связи придают дополнительные вандерваальсовы контакты метильных групп, окружающих катионный азот.

Набор активных группировок, обуславливающих избирательное действие АХ, их пространственное расположение и типы межмолекулярных связей с ХР могут быть определены путем сопоставления структурных особенностей природных и синтетических соединений, обладающих АХ-подобным (холиномиметическим) действием.

АХ — медиатор нервных импульсов в различных синапсах нервной системы. Однако по своей чувствительности к некоторым активным веществам ХР, находящихся в различных синапсах, существенно отличаются друг от друга. Следовательно, они различны и по своему строению. Для тестирования рецепторов в различных холинергических синапсах удобными эталонами оказались никотин и мускарин. На основании этого, по предложению

\* Мысль о структурном сходстве ХР и ХЭ была впервые высказана В. М. Карасиком (1947).



С. А. Аничкова (1946), ХР делят на два класса: мускариночувствительные (МХР) и никотиночувствительные (НХР). Здесь будут рассмотрены преимущественно НХР скелетных мышц.

### § 1. Выделение холинорецептора, состав и размеры молекулы

В 1970—1971 гг. появились первые работы по выделению ХР из электрического органа электрического угря *Torpedo* и *Electrophorus Electricus*. Для этого был применен меченный изотопной меткой  $\alpha$ -бунгаротоксин, выделенный из яда тайваньской змеи *Bungarus Multicinctus*. Токсин избирательно взаимодействует с никотиновым ХР, образуя с ним прочный комплекс. Этот комплекс удалось выделить, очистить и при помощи детергента получить из него чистый ХР, который оказался белком с молекулярной массой субъединицы приблизительно 42 000. Субъединицы объединены в олигомеры, главным образом, по-видимому, в тетрамеры. Т. М. Турпаев (1959) предположил, что ХР имеет белковую природу на основании того, что в нем были обнаружены сульфгидрильные группы.

Klett et al. (1973) определили аминокислотный состав ХР, выделенного из электрического органа электрического угря. Авторы приводят аминокислотный состав из расчета на 1 молекулу гистидина. Учитывая значение молекулярной массы, найденной Карлиным, можно пересчитать содержание аминокислотных остатков (АО) на 8 молекул гистидина. По данным Карлина, 54 молекулы  $\text{NH}_2$  приходятся на 42 Асп и 36 Глу, но как распределен аммиак между аспарагиновой и глутаминовой кислотами, авторами не установлено. В табл. 7 приводятся 12 Асп, 12 Глу, 30 Аспн и 24 Глун. Иное соотношение Глу, Асп и их амидов лишь весьма незначительно изменило бы молекулярный объем белковой молекулы  $V_t$ . Молекулярные объемы аминокислотных остатков  $V_{AO}$  см. в кн. А. А. Замятина «Дилатометрия растворов белков» (1973). Молекулярный объем ХР ( $V_t$ ) приведен как сумма объемов полярных ( $V_e$ ) и неполярных ( $V_i$ ) АО. Если считать, что форма ХР близка к сферической, то вычисленный по его объему ( $29\,630\text{ \AA}^3$ ) диаметр сферы будет равен приблизительно  $38\text{ \AA}$ . Приведем для сравнения вычисленный диаметр для сферической молекулы  $\alpha$ -бунгаротоксина — примерно  $27\text{ \AA}$  (Changeux et al., 1970); расстояние между катионными азотами у крупных высокоактивных курареподобных молекул с жесткой структурой равно  $19\text{--}20\text{ \AA}$  (Н. В. Хромов-Борисов и др., 1971).

Относительная полярность молекулы ХР  $P = V_e/V_t = 0,93$ .

При этом расчете все остатки цис отнесены к неполярным АО (с дисульфидными связями). Однако они могут находиться и в восстановленной, т. е. полярной, форме цис-SH. Если все семь остатков цис отнести к полярным АО, то отношение  $P$  окажется равным 0,99.

По Fischer (1964), для сферической молекулы объема  $V_t$  теоретическое значение относительной полярности  $P_{\text{сфер}}$  может быть



вычислено, полагая, что полярные АО расположены по внешней оболочке сферы толщиной 4 Å (рис. 15). Если для белковой макромолекулы значение  $P_{\text{сфер}}$ , вычисленное таким образом, лишь незначительно отличается от ее относительной полярности  $P$ , то фор-

Таблица 7

Объемные и массовые параметры ХР

| Полярные АО |                 |                 |          |                    |      |
|-------------|-----------------|-----------------|----------|--------------------|------|
| АО          | $V_{\text{АО}}$ | $M_{\text{АО}}$ | Число АО | Суммарные значения |      |
|             |                 |                 |          | $V$                | $M$  |
| Арг         | 104,1           | 156             | 15       | 1561,5             | 2340 |
| Асп         | 66,7            | 115             | 12       | 800,4              | 1380 |
| Аспн        | 70,6            | 114             | 30       | 2118,0             | 3420 |
| Глун        | 83,0            | 129             | 12       | 996,0              | 1548 |
| Глу         | 86,3            | 128             | 24       | 2071,2             | 3072 |
| Гис         | 19,9            | 137             | 8        | 735,2              | 1096 |
| Лиз         | 101,1           | 128             | 17       | 1718,7             | 2175 |
| Сер         | 53,4            | 87              | 22       | 1174,8             | 1914 |
| Тре         | 69,7            | 101             | 20       | 1394,0             | 2020 |
| Тир         | 116,2           | 163             | 15       | 1743,0             | 2446 |

Суммарный объем полярных АО:  $V_e = 14312,8$ .

Суммарная масса полярных АО:  $M_e = 21411$ .

| Неполярные АО |                 |                 |          |                    |      |
|---------------|-----------------|-----------------|----------|--------------------|------|
| АО            | $V_{\text{АО}}$ | $M_{\text{АО}}$ | Число АО | Суммарные значения |      |
|               |                 |                 |          | $V$                | $M$  |
| Гли           | 36,1            | 57              | 21       | 758,1              | 1197 |
| Ала           | 53,2            | 71              | 21       | 1117,2             | 1491 |
| Про           | 73,6            | 97              | 21       | 1545,6             | 2037 |
| 1/2 Цис       | 65,1            | 103             | 7        | 455,7              | 721  |
| Вал           | 83,9            | 99              | 31       | 2600,9             | 3069 |
| Лей           | 100,1           | 113             | 38       | 3803,8             | 4294 |
| Иле           | 100,1           | 113             | 23       | 2302,3             | 2599 |
| Мет           | 97,7            | 131             | 7        | 683,9              | 917  |
| Фен           | 113,9           | 147             | 18       | 2050,2             | 2646 |

Суммарный объем неполярных АО:  $V_i = 15317,7$ .

Суммарная масса неполярных АО:  $M_i = 18071$ .

Молекулярный объем ХР:  $V_t = V_e + V_i = 29630 \text{ Å}^3$ .

Молекулярная масса ХР:  $M_t = M_e + M_i = 39482$ .

ма этой макромолекулы приближается к сферической. Для ХР вычисленное значение  $P_{\text{сфер}}$  оказывается равным 1,02. Близкое совпадение  $P$  и  $P_{\text{сфер}}$  указывает, что форма субъединицы ХР близка к сферической. Поскольку при этом неполярные группы макромолекулы ХР уместаются во внутренней части глобулы, можно предположить, что объединение субъединиц в димеры и тетрамеры осуществляется не за счет гидрофобного взаимодействия, ■ за счет

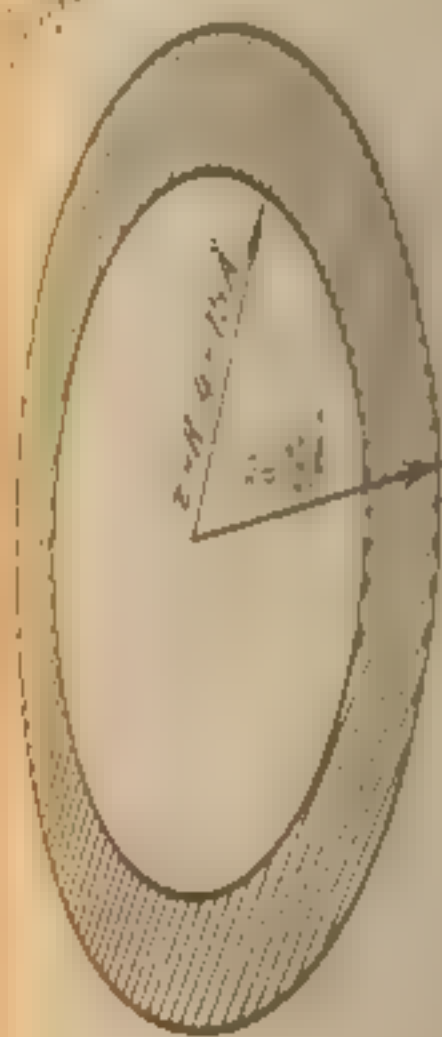


Рис. 15. Объем субъединицы ХР:

$R$  — радиус глобулы ХР;  $r$  — радиус сферы неполярных аминокислот

Приведенный здесь метод оценки по ее относительной полярности. Однако все же он не дает точной формы целого ряда белков (1967).

Необходимо указать, что предположение о том, что предельно концентрируются во внутренней части глобулы, было впервые высказано Клетта (1944).

По данным Клетта (1944), молекулярная масса АХ, имеющая приблизительно 90 000 г/моль, является рецепторным белком с молекулярной массой около 80 000, причем 1 моль а-бунгаротоксина, который связывается с двумя субъединицами ХР, близка к 40 000 г/моль.

В работе Борисов, Michelson, 1966) показано, что молекулярная масса АХ, имеющая приблизительно 90 000 г/моль, является рецепторным белком с молекулярной массой около 80 000, причем 1 моль а-бунгаротоксина, который связывается с двумя субъединицами ХР, близка к 40 000 г/моль.

То, что молекулярная масса АХ, имеющая приблизительно 90 000 г/моль, является рецепторным белком с молекулярной массой около 80 000, причем 1 моль а-бунгаротоксина, который связывается с двумя субъединицами ХР, близка к 40 000 г/моль.

Важно отметить, что молекулярная масса АХ, имеющая приблизительно 90 000 г/моль, является рецепторным белком с молекулярной массой около 80 000, причем 1 моль а-бунгаротоксина, который связывается с двумя субъединицами ХР, близка к 40 000 г/моль.



других типов межмолекулярных связей: водородных дисульфидных, солеобразных.

Здесь следует указать, что в работе по исследованию ХР, выделенного из электрического органа (Chang, 1974), приводится молекулярная масса одной субъединицы ХР, равная 41 500, и указывается, что субъединицы легко образуют олигомеры, по-видимому, путем окисления SH-групп.

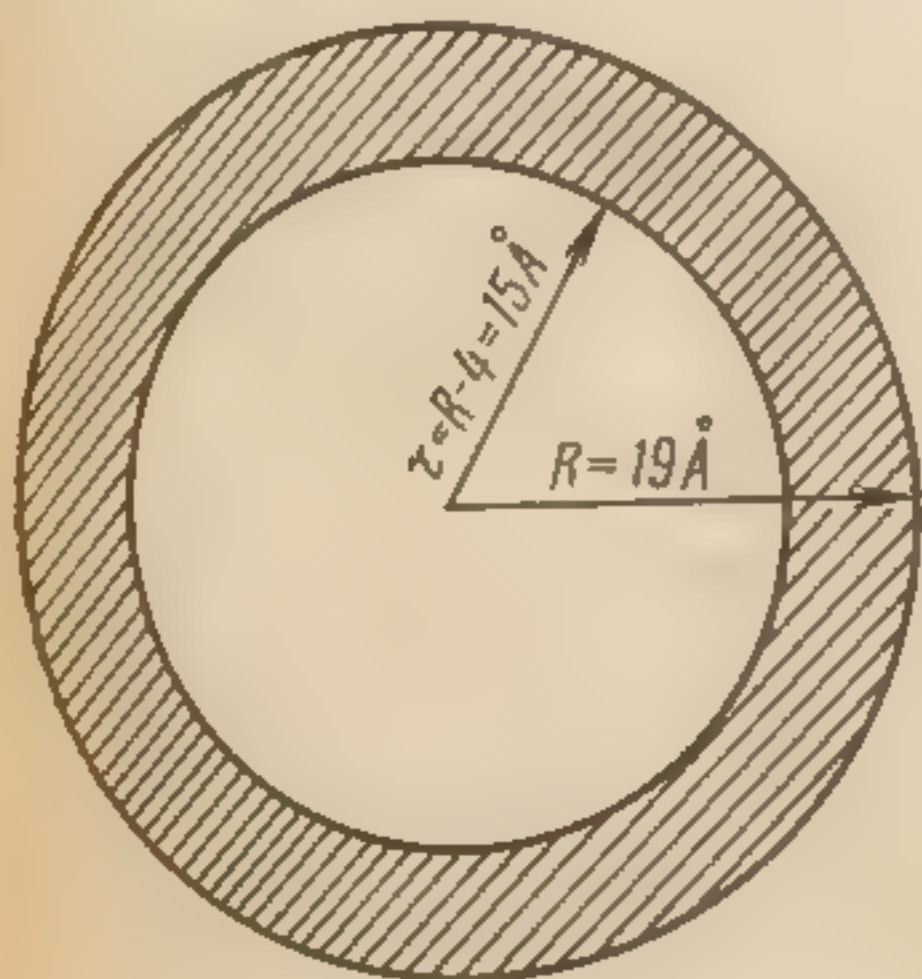


Рис. 15. Объем субъединицы ХР:

$R$  — радиус глобулы ХР;  $r$  — радиус сферы неполярных аминокислот

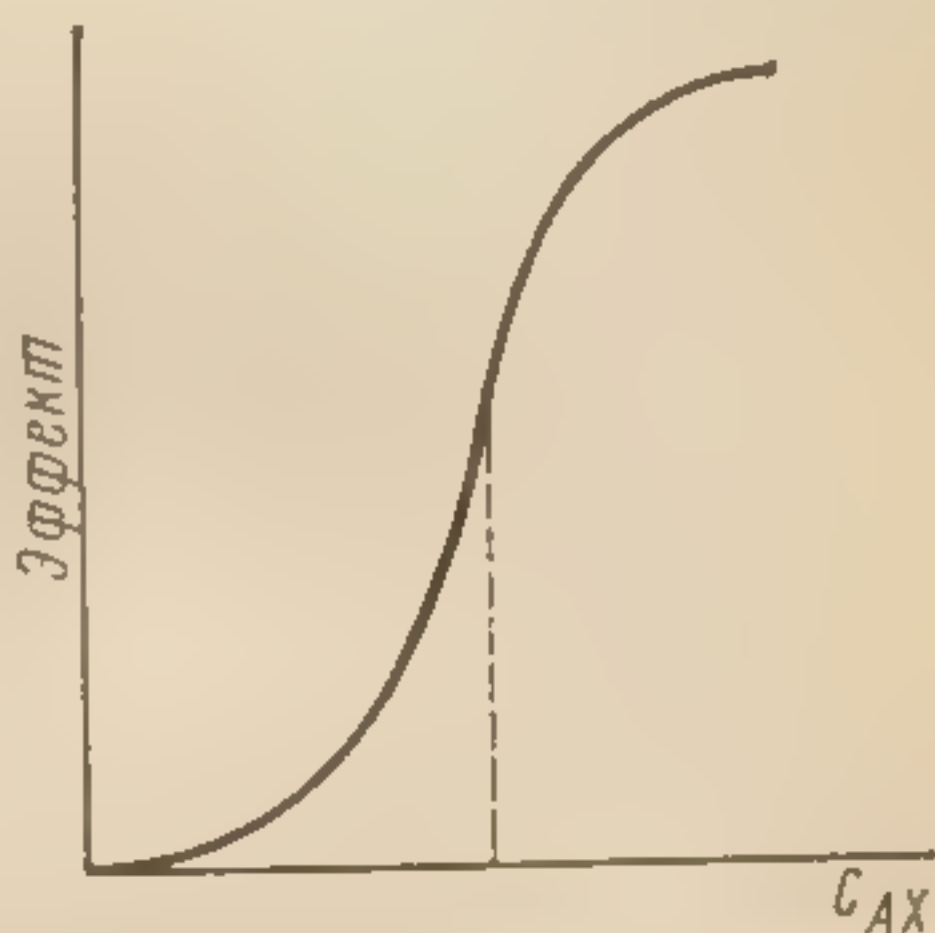


Рис. 16. Кривая доза — эффект на олигомерном ХР

Приведенный здесь метод оценки формы белковой макромолекулы по ее относительной полярности следует считать весьма приближенным. Однако все же он позволяет удовлетворительно оценить форму целого ряда белковых молекул (М. В. Волькенштейн, 1967).

Необходимо указать, что представление о том, что гидрофобные АО концентрируются во внутренней сфере и этим определяют форму глобулы, было впервые высказано С. Е. Бреслером и Д. Л. Талмудом (1944).

По данным Клетта (1973), 1 моль нейротоксина кобры связывает приблизительно 90 000 г ХР. Miledi et al. (1971) считают, что холинорецепторный белок состоит из единиц с молекулярной массой порядка 80 000, причем каждая такая единица связывает 1 моль  $\alpha$ -бунгаротоксина. Учитывая, что молекулярная масса одной субъединицы ХР близка к 40 000—42 000, можно предположить, что одна молекула нейротоксина взаимодействует одновременно с двумя субъединицами ХР. Все эти данные согласуются с высказанной ранее гипотезой об олигомерном строении ХР (Khromov-Borison, Michelson, 1966).

То, что молекулярная масса ХР в несколько сот раз превышает молекулярную массу АХ, имеет, несомненно, существенное биологическое значение. Малые размеры АХ обеспечивают его высокую подвижность в жидкой фазе; это необходимо для быстрой передачи нервного импульса. С другой стороны, для осуществления перехода от молекулярного процесса (взаимодействие АХ с ХР) к мембран-



ному (изменение ионной проницаемости) необходимы большие размеры ХР, сопоставимые с толщиной клеточной мембраны (порядка 60—90 Å).

Биологическое значение олигомеризации ХР заключается в кооперативном характере взаимодействия АХ с олигомерным ХР (положительная обратная связь). Если присоединение первой молекулы медиатора к одной из субъединиц олигомера облегчает присоединение следующих молекул, то кривая концентрация—эффект будет иметь сигмоидную форму (рис. 16). Такая форма кривой была получена при исследовании (Katz, Thesleff (1957) портняжной мышцы лягушки (на одном мышечном волокне). Как следует из рисунка, незначительное повышение концентрации АХ (в области перегиба кривой) вызывает резкое повышение эффекта, быстрое сокращение мышцы. М. Я. Михельсон (1970) считает, что сигмоидная кривая может быть обусловлена неодинаковой чувствительностью разных рецепторов. Однако было показано, что и при разной чувствительности мономерных рецепторов (при отсутствии положительной обратной связи) кривая доза—эффект не может иметь сигмоидную форму.

## § 2. Конформации холинорецепторов и медиаторных молекул

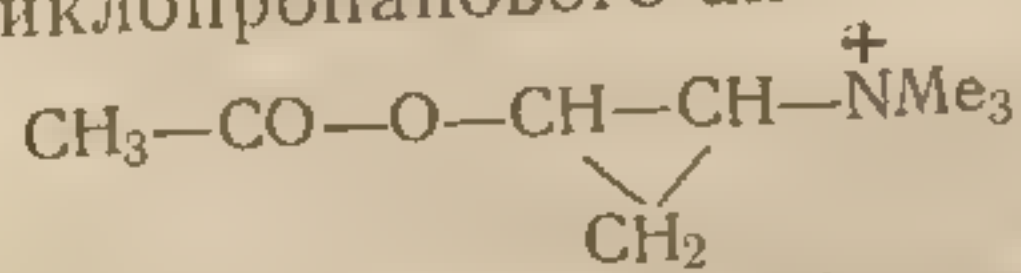
Что же следует считать первичным результатом взаимодействия ХР с АХ? Как уже говорилось, при этом взаимодействии происходит какое-то обратимое кратковременное изменение макромолекулы ХР, которое влечет за собой изменение физико-химических свойств мембраны. Образование комплекса ХР—АХ происходит не за счет ковалентных связей—первичная структура макромолекулы ХР не нарушается. Между ХР и АХ возникают более слабые, межмолекулярные связи (см. с. 114), вследствие чего, вероятно, и происходит изменение конформации ХР (его вторичной и третичной структуры). Известно, что конформация белковой макромолекулы определяется как внутренними причинами (первичной структурой белка), так и внешними (взаимодействием с микромолекулами, находящимися в окружающей среде). Показано также, что изменение конформации—это кооперативный процесс, не требующий большой затраты энергии: поворот в одном звене белковой цепи определяет конформацию соседних звеньев. Так, например, энергия перехода спираль—клубок для коллагена равна приблизительно 6,3 кДж/моль. При изменении конформации может существенно измениться расстояние между активными группами белка. В этом отношении детально исследовано обратимое конформационное изменение гемоглобина, происходящее в результате взаимодействия с кислородом. Гемоглобин (мол. масса 65 000) в результате присоединения кислорода (мол. масса 32) изменяет таким образом свою конформацию, что расстояние между гемами уменьшается на 7 Å (Wyman, 1963). Исходная конформация ХР (в невозбужденном состоянии) зависит от того, при помощи каких



групп молекулы ХР связаны с веществом мембраны. Поэтому на различных мембранах один и тот же ХР может иметь различные конформации, а следовательно, и неодинаковое расположение реакционных групп в пространстве. Не исключена возможность, что этим определяется различие в свойствах ХР, находящихся в различных синапсах: ХР в синапсах сердца, гладкой мускулатуры и желез более чувствителен к мускарину (М-холинорецепторы), а в ганглионарных синапсах и соматических нервно-мышечных синапсах ХР более чувствителен к никотину (Н-холинорецепторы). Конформация ХР, полученного в свободном состоянии, будет отличаться от конформации «мембранного» ХР. Из области ферментов известно, например, что холинэстераза, соединенная с мембраной, и холинэстераза в растворе различны по своей активности в отношении ряда субстратов и ингибиторов. В этом заключается одна из главных трудностей достижения чисто молекулярного уровня при изучении взаимодействия холинергических соединений с ХР, полученным в свободном состоянии.

Вопрос о конформациях медиатора и рецептора (и соответственно субстрата и фермента) неизбежно возникает, если считать установленным, что избирательность при взаимодействии этих соединений определяется их структурной комплементарностью. По этому вопросу были высказаны различные предположения: так, по Armstrong et al. (1968), при взаимодействии с М- и Н-холинорецепторами АХ приобретает различные конформации, которые индуцируются различными рецептивными поверхностями М- и Н-рецепторов. Это предположение противоположно утверждению Кошлан-да, что субстрат изменяет конформацию фермента («индуцированная конформация» активного участка). Компромиссным в этом отношении является высказывание Alan, Solter (1965), что АХ «претерпевает небольшие изменения, чтобы присоединиться к ферменту, в то время как последний несколько изменяет свою структуру, чтобы присоединить субстрат». По М. В. Волькенштейну (1965), «при взаимодействии с субстратом происходит отбор таких конформаций, которые наиболее выгодны в смысле соответствия фермент — субстрат». Наконец, существует предположение, что АХ поступает в синаптическую щель в подготовленной для данного рецептора конформации, которая формируется на пресинаптической мембране везикулярной решеткой.

Для изучения этого сложного вопроса очень заманчиво пользоваться жесткими молекулами («замороженными конформациями»), однако при этом нужно обязательно учитывать, что те структурные изменения, которые необходимы для придания жесткости, могут сами повлиять на избирательность действия. Так, например, (+) транс-изомер циклопропанового аналога АХ



оказался М-миметиком, по активности близким к АХ и почти полностью лишенным Н-активности. Однако фактически это соедине-



ние является одновременно аналогом  $\alpha$ - и  $\beta$ -метилацетилхолина. Поэтому результаты его исследования не могут дать однозначного ответа: что повлияло на избирательность действия — трансондная структура жесткого звена или введение радикала  $\text{CH}_2$ .

Определение конформации АХ в кристаллическом состоянии (рентгеноструктурным анализом) и в растворе (исследованием ИК спектров) также не дает однозначного ответа о реакционных конформациях молекулы АХ, поскольку они оказались различными у солей с разными анионами и в различных растворителях.

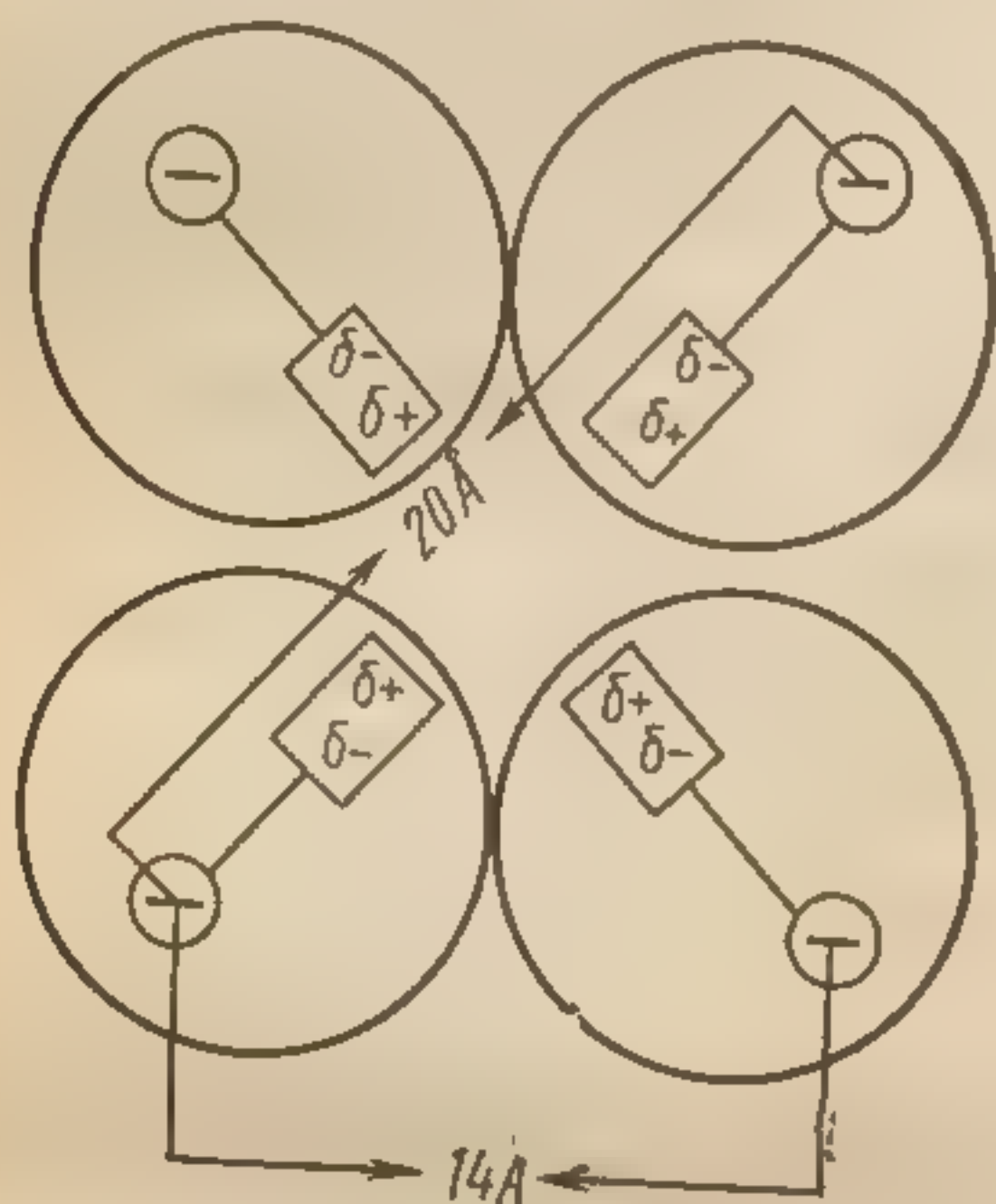


Рис. 17. Схема расположения субъединиц в тетрамерном ХР

известно, что при повышении температуры увеличивается прочность вандерваальсовых связей (К. Т. Порошин, В. А. Шибнев, 1968). Это может служить подтверждением, что при действии холинолитиков вандерваальсовы контакты играют доминирующую роль.

### § 3. Взаимодействие дикатионов с холинорецепторами скелетных мышц

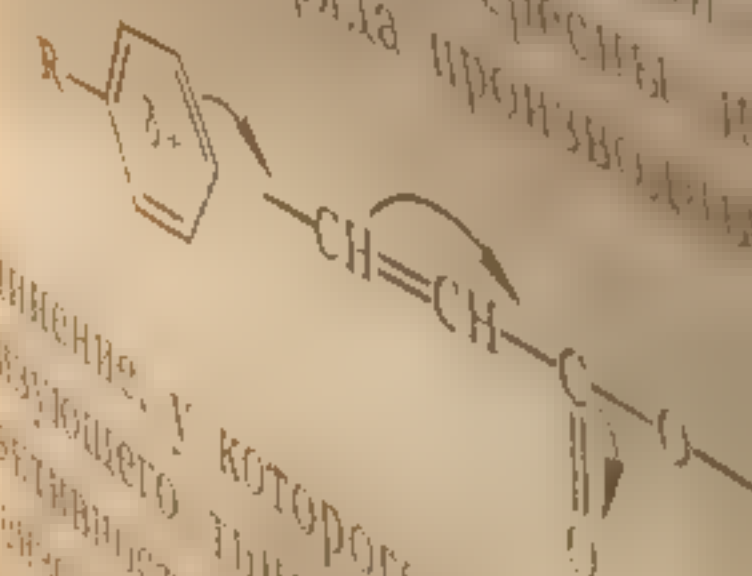
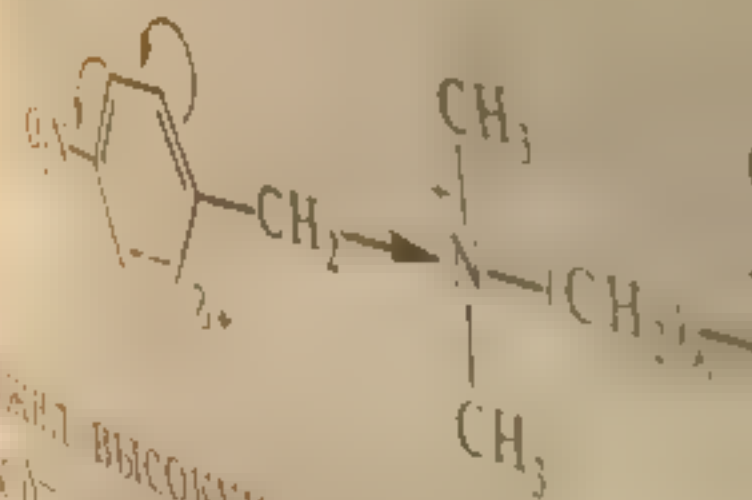
При рассмотрении этого взаимодействия в книге будет использовано схематическое изображение тетрамерного ХР (рис. 17).

Принимая во внимание эти данные о структуре ХР, были синтезированы миорелаксанты, имеющие важное значение в практической фармакологии.

Согласно этому рисунку, АХ и дикатионы с  $\text{N} - \text{N}$ -расстоянием порядка 20 Å (структура С-16) реагируют по диагонали квадрата. Здесь имеется возможность образовать контакты как с анионными (—), так и эстерофильными участками ХР  $\delta + \delta -$ . Дикатионы с  $\text{N} - \text{N}$ -расстоянием порядка 14 Å (структура С-10) реагируют по сторонам квадрата, а с эстерофильными участками контактов образовать не могут.

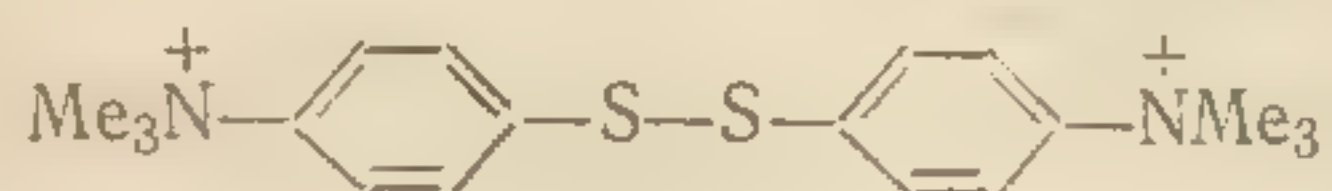
По сравнению с монокатионами дикатионы образуют более прочный комплекс с ХР, вследствие чего они оказывают более сильное миметическое действие.

Тем не менее, привлекая методы вычисления конформаций по заданным атомным параметрам, а также используя масштабные атомные модели, можно определить наиболее стабильные и, наоборот, «запрещенные» конформации АХ и других активных молекул. Здесь интересно указать, что повышение температуры вызывает увеличение активности холинолитиков и понижение активности холиномиметиков (Bigland et al., 1958). В то же время





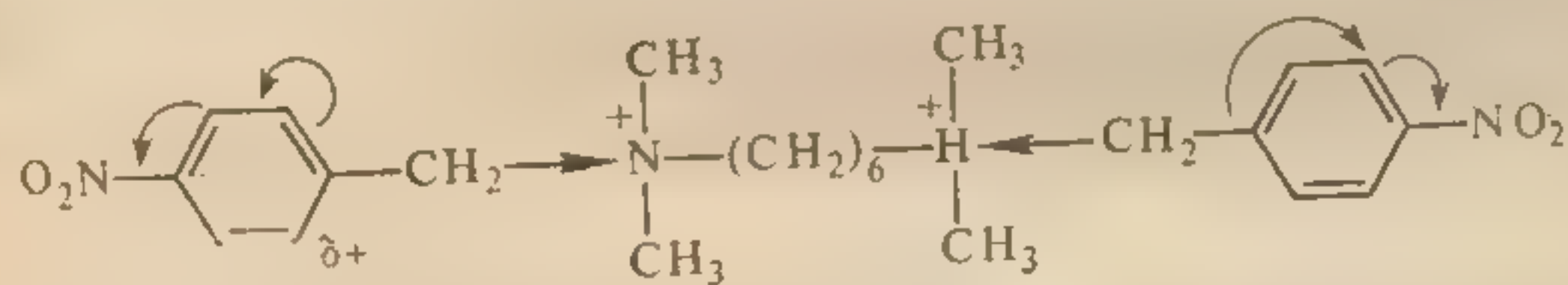
На основе этого положения был синтезирован дикатион с N — N-расстоянием 14 Å, содержащий дисульфидную группу ■ средней части молекулы:



Он оказался активным миорелаксантом деполаризующего типа действия. При введении сульфита натрия, унитиола или цистеина (веществ, способных расщеплять дисульфидную связь) кураризация прекращалась вследствие превращения дикатионов в монокатионы. Этот принцип был с успехом использован и для получения управляемого ганглиоблокатора — аналога гексония с дисульфидной связью.

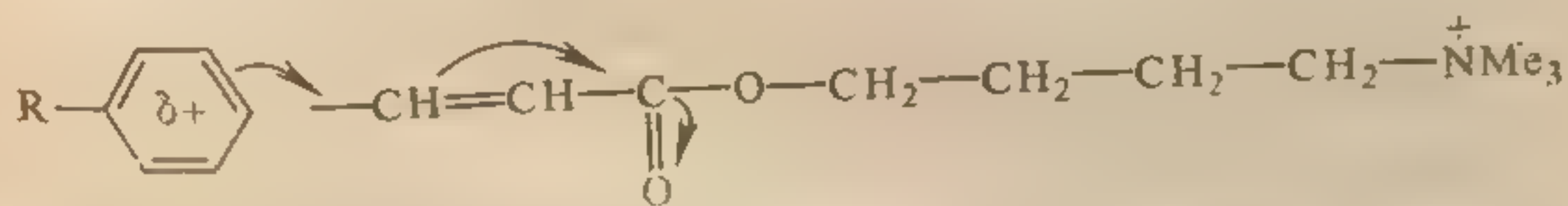
На ряде примеров было показано, что активность дикатиона с N—N-расстоянием, близким к 20 Å, в значительной степени зависит от наличия дипольных группировок ■ средней части молекулы. При благоприятном расположении дипольных группировок (как это имеет место в молекуле АХ) они могут взаимодействовать с эстерофильными участками ХР. В этом случае удаление одной катионной группы не вызывает резкого падения активности.

Таким образом, дробные электрические заряды, возникающие в результате электронных смещений, могут способствовать избирательному взаимодействию вещества с ХР при комплементарной ориентации зарядов в реагирующих молекулах. Например, синтезированный препарат:



обнаружил высокую курареподобную активность. В нем дробные заряды  $\delta^+$  находятся на расстоянии 14 Å друг от друга.

В этом отношении интересны исследования Д. А. Харкевича и др. (1965, 1970) ряда производных коричной кислоты:

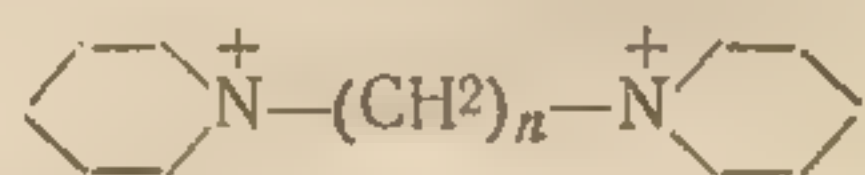


Соединение, у которого  $R = H$ , является миорелаксантом деполаризующего типа действия; его активность равна примерно 0,1 от активности декаметония. Вследствие сопряжения группы  $C = O$  с бензольным кольцом ■ последнем возникает заряд  $\delta^+$  на расстоянии, близком к 14 Å от группы  $N^+\text{Me}_3$ , и появляется возможность взаимодействия со вторым анионным пунктом ХР. При замене двойной связи на простую сопряжение нарушается и активность уменьшается в 10—20 раз. Введение в бензольное кольцо коричной кислоты группы  $\text{NO}_2$  или  $\text{OCH}_3$  приводит к значительному



повышению активности — примерно в 10 раз. Последнее особенно интересно, поскольку эти группы обладают противоположным электронным эффектом и создают диполи противоположных направлений. Однако в результате гибкости молекул  $R=NO_2$  и  $R=CH_3O$  возможна благоприятная ориентация диполей относительно анионного пункта и возникновение ион-дипольного притяжения.

Для количественной проверки предположения о роли зарядов  $\delta^+$  была исследована курареподобная активность дипиридиниевых соединений:

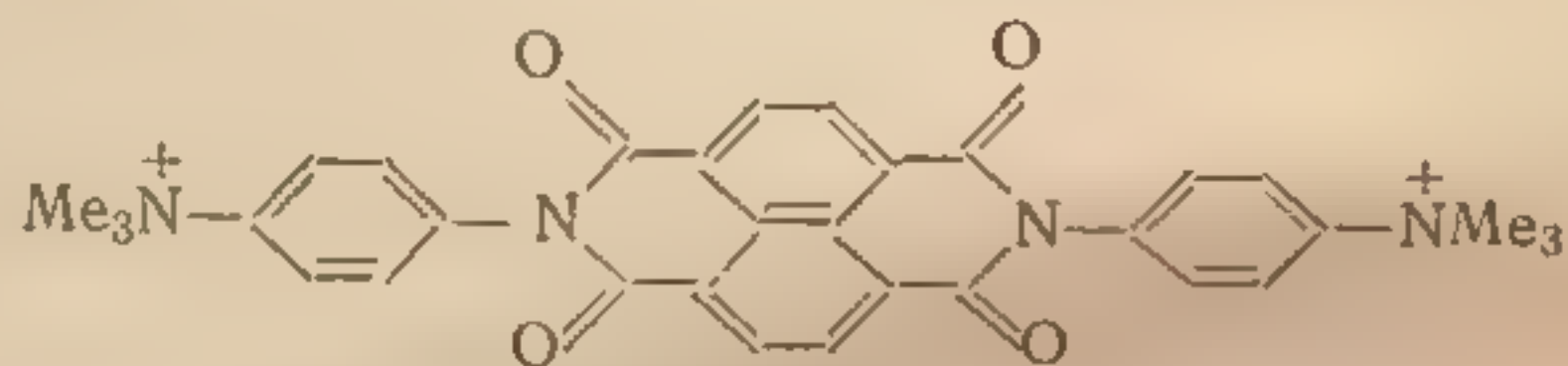


с различной длиной полиметиленовых цепочек. Зная распределение  $\pi$ -электронной плотности в пиридиниевом ионе, можно вычислить значения зарядов  $\delta^+$  у атомов, находящихся на расстоянии 14 Å друг от друга. Оказалось, что активность этих соединений пропорциональна вычисленным значениям зарядов  $\delta^+$ .

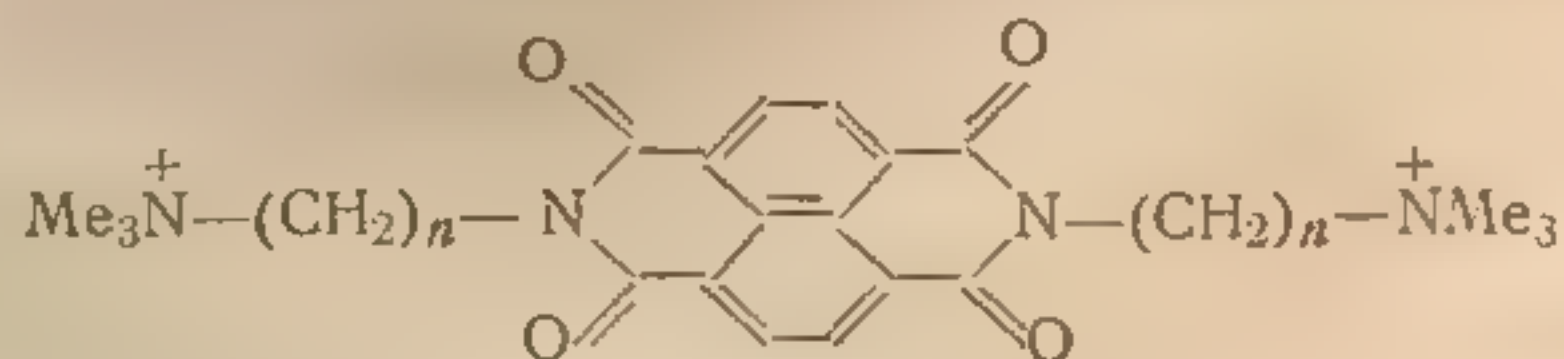
При конформационном превращении тетрамерного или димерного ХР расстояние между его анионными центрами может измениться (подобно изменению расстояния между гемами в оксигемоглобине). Ясно, что такое изменение в комплексе ХР с дикатионом возможно лишь в том случае, если дикатион обладает определенной гибкостью. Из этого следует, что активные миорелаксанты деполаризующего типа действия должны обладать следующими структурными признаками: а) расстояние между положительными зарядами, близкое к 14 или 20 Å, чтобы могли возникнуть контакты с двумя анионными центрами ХР; б) гибкая структура молекулы, допускающая изменение конформации ХР в комплексе с дикатионом.

#### § 4. Зависимость типа действия дикатионов от их гибкости

Обнаружено, что жесткий дикатион



содержащий катионные группы N—N, обладает антидеполаризующим типом действия, ■ аналогичный дикатион с тетраметиленовыми звеньями ( $n=4$ ):



— деполаризант, несмотря на наличие жесткой полициклической структуры в средней части молекулы.



У соединения с более короткими гибкими звеньями ( $n=2$ ) и N—N-расстоянием приблизительно 14 Å степень гибкости меньше. Это соединение оказалось антидеполяризатором. Для деполяризующего действия необходимо, по-видимому, чтобы дикатион, образовав комплекс с ХР, мог принимать изогнутую конформацию с уменьшением до определенных размеров N—N-расстояния. В связи с этим возникает вопрос, как изменяются расстояния между анионными группами в тетрамерном ХР, когда он переходит в возбужденную конформацию под влиянием миметиков.

Если деполяризация мембраны — следствие обратимых конформационных превращений ХР, то можно допустить, что эти превращения могут быть заторможены не только при максимальном удалении анионных центров друг от друга, но и при их наибольшем сближении. В последнем случае жесткость дикатиона, связывающего два анионных центра, не обязательна. Если это так, то должны существовать полиметиленовые дикатионы, более короткие, чем декаметоний, обладающие свойством антидеполяризующих миорелаксантов. Конечно, вероятность такого взаимодействия (а следовательно, и активность такого антидеполяризатора) должна быть низкой, так как максимальное сближение анионных групп соответствует возбужденному состоянию, в котором ХР находится лишь весьма кратковременно.

Из полиметиленовых дикатионов антидеполяризующим свойством обладают гексаметоний и пентаметоний. По-видимому, они взаимодействуют с ХР путем конкурентного вытеснения АХ-медиатора из реакции.

На основании этих данных, по N—N-расстоянию гексаметония можно примерно оценить расстояние между анионными центрами соседних субъединиц ХР в момент их наибольшего сближения. По этим параметрам также можно определить в первом приближении ту минимальную гибкость дикатиона, которая необходима для деполяризующего действия на ХР скелетных мышц. Дикатион с N—N-расстоянием 14 Å должен обладать способностью переходить в конформацию с N—N-расстоянием 8,5 Å. Для дикатиона с N—N-расстоянием 20 Å должна быть возможна конформация с N—N-расстоянием 12 Å.

Высказанные предположения могут быть подвергнуты экспериментальной проверке целенаправленным синтезом и исследованием соединений определенно-заданного строения. Однако сложность такого метода исследования заключается в том, что изменение одной «структурной детали» у исходного соединения неизбежно вызывает изменение электронного облака во всей молекуле, что влечет за собой изменение реакционной способности функциональных групп, стерических факторов и физико-химических свойств. Вследствие этого зависимость фармакологических свойств молекулы от ее строения многофакторна. Поэтому необходимо исследовать не отдельные соединения, а серии соединений, обладающих минимальными структурными различиями и максимальным сходством.

### ГЛАВА 3

#### КАТЕХОЛАМИНЫ. АДРЕНОРЕЦЕПТОРЫ. АДРЕНЕРГИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА

Адреналин впервые был выделен как прессорное вещество из экстракта мозгового вещества надпочечников (Takamine, 1901). Позже обнаружилось, что надпочечники продуцируют также норадреналин. Оба вещества относятся к производным пирокатехина (пирокатехинамины, катехоламины). Они продуцируются хромофинными клетками надпочечников. Соотношение обоих катехоламинов (КА) в инкрете надпочечников определяется видом животного: в надпочечниках кроликов и морских свинок содержится преимущественно норадреналин; в надпочечниках мышей, крыс, человека уровень норадреналина составляет 10—20%, кошек и



собак — 20—40%, а лягушек — 80% от общего содержания КА в инкрете (Euler, 1956).

Функциональное единство симпатoadреналовой системы находит свое выражение в поразительном сходстве действия гормона адреналина с эффектом раздражения симпатических нервов. Учитывая это сходство, Elliott (1905) высказал предположение об участии веществ, близких к адреналину, в реализации влияния симпатических нервов. Позже Loewi (1921, 1936) показал, что вещество со свойствами адреналина («sympaticusstoff») содержится в сердце лягушки в количестве 1—2 мкг/г ткани и выделяется в жидкость, оттекающую от изолированного сердца при раздражении сердечного симпатического нерва.

В отличие от амфибий, у которых функцию медиатора симпатических нервов выполняет адреналин (Burnstock, 1969), медиатором симпатических нервов у млекопитающих служит норадреналин (НА). Исследуя содержание КА в экстрактах грудной симпатической цепочки и селезеночных нервов крупного рогатого скота и лошадей, Euler (1946) установил, что нервная ткань содержит до 100 мкг/г активного вещества, которое по биологическим свойствам и физическим константам полностью соответствует *l*-норадреналину. С помощью метода флюоресцентной микроскопии норадреналин удается визуально выявить в окончаниях нервов тех органов, которые получают симпатическую иннервацию. Интенсивно флюоресцируют варикозно расширенные терминалы аксонов, особенно в области синапсов. Здесь содержание НА в 300—1000 раз выше, чем в других отделах адренергических нейронов.

Непосредственным побудителем инкреторной деятельности хромоаффинных клеток служат нервные импульсы, поступающие к надпочечникам по чревным нервам. Условия, при которых усиливается импульсация и увеличивается выброс КА из надпочечников, хорошо изучены. Все ситуации, когда человеку или животному приходится экстренно мобилизовать свои ресурсы на борьбу с угрожающей опасностью — раздражение чувствительных нервов, травма, наркоз, ожог, охлаждение, кровопотеря, воздействие ионизирующей радиации, усиленная мышечная работа и психическое возбуждение, сопровождаются интенсивным выбросом адреналина из надпочечников. Такие «реакции напряжения» (*stress*), если они длительны, сопровождаются истощением содержания адреналина в надпочечниках и мобилизацией норадреналина из терминалей аксонов симпатических нервов. Физиологическая сущность симпатoadреналовых влияний состоит в приспособлении интенсивности обмена в тканях к потребностям данного момента.

Большая концентрация НА определена в головном мозге. Здесь обнаружено также весьма высокое содержание дофамина. Почти весь дофамин (ДА) головного мозга сосредоточен в хвостатом ядре (3,5 мкг/кг), скорлупе (3,7 мкг/г) и черной субстанции (0,9 мкг/г), т. е. в центрах экстрапирамидной системы (Carlsson, 1959). Методом флюоресцентной микроскопии показано наличие норадренергических и дофаминергических терминалей в разных областях моз-



га, а также выявлена система восходящих и нисходящих норадреналин- и дофаминергических путей (см. рис. 21). Восходящие норадренергические пути разделяются на дорзальный и вентральный пучки аксонов. Аксоны дофаминергических нейронов образуют три пучка: нигро-неостриальный, мезолимбический и тубероинфундулярный. Нисходящие пути берут начало от тел клеток, расположенных в области ретикулярного ядра продолговатого мозга, аксоны этих нейронов заканчиваются в сером веществе разных уровней спинного мозга.

При электрическом раздражении ряда структур мозга, например миндалины или гипоталамуса, в питательную жидкость, протекающую через желудочки мозга, выделяется значительное количество НА. При раздражении черной субстанции или хвостатого ядра в перфузат выделяется дофамин.

Представленные данные однозначно свидетельствуют, что адреналин выполняет у млекопитающих (у амфибий — НА) функцию гормона, а НА функционирует в качестве медиатора в адренергических синапсах, образованных терминалями аксонов адренергических нейронов и клетками исполнительных органов. НА и ДА выполняют также функцию передатчиков в норадренергических и дофаминергических синапсах головного и спинного мозга.

## § 1. Адренергические рецепторы и адренорецепция

Адренергический синапс, как и любой другой синапс, по существу нейрохимическая преобразующая система, трансформирующая электрическую энергию нервного импульса в химические процессы, приводящие к возбуждению или торможению иннервируемой клетки. Центральным процессом, обеспечивающим изменение функции иннервируемой клетки, является взаимодействие медиатора с постсинаптической мембраной, способной рецептировать медиатор адренергических нервов. Этот процесс (адренорецепция) обеспечивается рядом других протекающих в синапсе биохимических процессов: синтезом медиатора, его накоплением во внутриаксональных везикулах, высвобождением из окончаний аксона в синаптическую щель, инактивацией медиатора. С другой стороны, взаимодействие медиатора с постсинаптической мембраной вызывает в иннервируемой клетке цепь последовательных электрохимических и энзимохимических процессов, сопрягающих адренорецепцию с конечным изменением функции клетки: сокращением, секрецией, генерацией нервного импульса, торможением активности.

Адренергические, точнее катехоламинергические, рецепторы — макромолекулы преимущественно белковой природы, с генетически predetermined структурой активного центра, способные за счет функциональных групп последнего обратимо взаимодействовать с катехоламинами и их изостерами так, что это взаимодействие обуславливает возникновение цепи энзимо- и электрохимических процессов, приводящих к изменению функции клеток.



Неодинаковая чувствительность клеток разных органов и тканей к катехоламинам, так же как различия в спектре действия адренолитиков, есть отражение объективно существующих различий в структуре и функциях адренергических рецепторов клеток.

**Фармакологическая дифференциация адренергических рецепторов.** Используя КА, адрено- и дофаминолитики в качестве инструмента фармакологического анализа, удается дифференцировать адренорецепторы на ряд типов.

Dale (1906) первым пришел к заключению о существовании разных типов адренорецепторов. Впоследствии Ahlquist (1948, 1966) развил эту идею, выделив  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренергические рецепторы. Первые определялись им как рецепторы, которые в наибольшей степени реагируют на воздействие адреналина и в наименьшей — на воздействие изадрина и блокируются адренолитиками типа дибенамина, фентоламина. Через их посредство осуществляется адренергическое возбуждение и сокращение гладких мышц ряда органов, но также понижение тонуса мышц желудка и кишечника.  $\beta$ -Адренорецепторы проявляют наибольшую чувствительность к изопреналину и блокируются дихлоризопротеренолом, пропранололом. С их посредством осуществляется расслабление гладких мышц сосудов, бронхов, кишечника, сердечные и метаболические эффекты КА.

В дальнейшем оказалось, что  $\beta$ -адренорецепторы, опосредующие влияние КА на гладкие мышцы и сердце, легко дифференцируются на  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренергические рецепторы как по различной их чувствительности к КА (Lands et al., 1967), так и способности адреноблокаторов выключать их функцию. В табл. 8 показана степень влияния ( $pA_2$ ) \*  $\beta$ -адренолитиков на эффекты изадрина и метаболические эффекты адреналина.

Учитывая, что дигидроэрготамин не изменяет влияния адреналина на сердце кроликов или крыс, но устраняет у них адреналиновую гипергликемию; бутоксамин, не изменяя влияния КА на сердце и кишечник, устраняет гликогенолитический и липолитический эффекты адреналина; гликогенолиз в печени и липолиз в жировой ткани подавляются не только  $\beta$ -, но и некоторыми  $\alpha$ -адреноблокаторами, ряд исследователей полагают необходимым выделение  $\gamma$ -адренорецепторов в качестве особого типа адренергических рецепторов метаболизма.

Furchgott (1967) получил данные, свидетельствующие об однородности  $\alpha$ -адренорецепторов разных клеток. Они характеризуются образованием с фентоламином комплекса, для которого константа диссоциации ( $K_d$ ) порядка  $10^{-9}$  М, и рядом активности адреномиметиков, где адреналин  $\approx$  НА  $>$  мезатон  $\gg$  изадрин. Это заключение справедливо, вероятно, для всех  $\alpha$ -адренорецепторов, исключая  $\alpha$ -адренорецепторы гладких мышц желудка и кишечника.

\*  $pA_2$  — мера активности антагонистов, численно равная отрицательному логарифму концентрации, устраняющей прирост эффекта удвоенной концентрации КА; адреномиметический эффект устраняется полностью (+), частично ( $\pm$ ), не изменяется (—).

| Адренолитик                          | Сердце                     |                            |
|--------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                                      | $\beta_1$ -адренорецепторы | $\beta_2$ -адренорецепторы |
| Адреналин (про-<br>пранолол)         | 8,6                        | 7,2                        |
| Адреналин (аль-<br>бутерол)          | 7,2                        | 7,5                        |
| Дихлоризопротерен<br>(те-<br>рентин) | 7,4                        | 6,8                        |
| Бутоксамин                           | 3,0                        | 3,0                        |

доса и других дофаминолитики  
миновыми рецепторами нервн  
заются отсутствием чувствите  
циям мезатона, а  $\alpha$ -адреноли  
ния ДА на нейроны хвостато  
загла кошек, терминали акс  
можно, что тормозное влияни  
дофаминовые рецепторы, так  
как это показано в более ран  
ной коры мозгового ствола  
Тем не менее наличие  $\alpha$ -а  
торам не менее различные  $\alpha$ -а  
нах некоторых желудочно-киш  
на холинергических нервных клет  
яется в равной степени эффек  
мином. Последний устраняет  
радиального оптического трак  
ствова, активность которого  
воздействии правовращающ  
дофамин,  $\beta$ -гидроксил не  
тормоз; на нейроны, возбуж  
не действует или действует



В отличие от  $\alpha$ -адренорецепторов семявыносящего протока крыс, которые легко блокируются фентоламином ( $pA_2$  7,81; агонист — мезатон) и лишь слабо ингибируются галоперидолом ( $pA_2$  5,74),  $\alpha$ -адренорецепторы желудка крыс блокируются галоперидолом ( $pA_2$  8,58), аминазином и трифтазином в концентрациях даже несколько меньших, чем концентрация фентоламина ( $pA_2$  7,76).

Высокая чувствительность  $\alpha$ -адренорецепторов гладких мышц желудочно-кишечного тракта к блокирующему влиянию галопери-

Таблица 8

| Адренолитик                  | Сердце                          | Кишечник,<br>желудок           | Липо-<br>лиз               | Гликогенолиз |       | Расслабление гладких<br>мышц |         |       |
|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|----------------------------|--------------|-------|------------------------------|---------|-------|
|                              |                                 |                                |                            | печень       | мышцы | сосудов                      | бронхов | матки |
|                              | $\beta_1$ -адренорецеп-<br>торы | $\gamma$ -адреноре-<br>цепторы | $\beta_2$ -адренорецепторы |              |       |                              |         |       |
| Анаприлин (про-<br>пранолол) | 8,6                             | 7,2                            | +                          | +            | +     | 7,7                          | 7,6     | 8,2   |
| Алфепрол (аль-<br>пронолол)  | 7,2                             | 7,5                            |                            |              |       | 8,6                          | 8,5     |       |
| Практолол (те-<br>ренол)     | 7,4                             | 6,8                            | $\pm$                      | $\pm$        | —     | 3,9                          | 5,1     | 4,2   |
| Бутоксамин                   | 3,0                             | 3,0                            | +                          | +            | +     | 6,5                          | 6,9     | 6,9   |

дола и других дофаминолитиков сближает их с тормозными дофаминовыми рецепторами нервных клеток. Однако последние отличаются отсутствием чувствительности даже к высоким концентрациям мезатона, а  $\alpha$ -адренолитики не устраняют тормозного влияния ДА на нейроны хвостатого ядра, каудального брыжеечного ганглия кошек, терминали аксонов адренергических нейронов. Возможно, что тормозное влияние НА, если оно опосредуется через дофаминовые рецепторы, также не устраняется  $\alpha$ -адренолитиками, как это показано в более ранних работах для нейронов пириформной коры мозгового ствола или интернейронов спинного мозга.

Тем не менее наличие  $\alpha$ -адренорецепторов, идентичных  $\alpha$ -рецепторам мышц желудочно-кишечного тракта, возможно и в мембранах некоторых нервных клеток. Так, тормозное влияние НА и ДА на холинергическое проведение в верхнем шейном ганглии устраняется в равной степени эффективно и галоперидолом, и фентоламином. Последний устраняет тормозное влияние НА, подводимого микроионофоретически к нейронам обонятельных бугорков и латерального оптического тракта. Существенно, что нейроны мозгового ствола, активность которых подавляется (—)-НА, тормозятся и при воздействии правовращающего его изомера, в котором, как и в дофамине,  $\beta$ -гидроксил не участвует во взаимодействии с рецептором; на нейроны, возбуждаемые (—)-норадреналином, (+)-НА не действует или действует слабо. Иначе говоря, стереоспецифич-

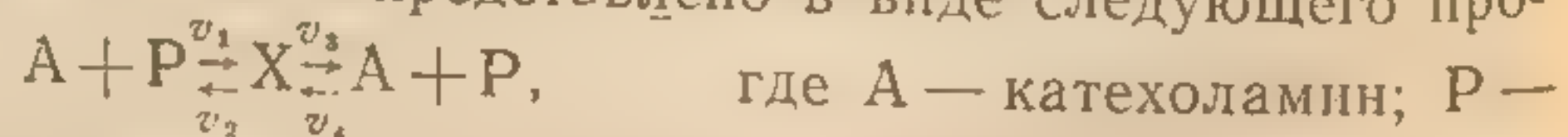


ность, характерная для влияния КА на адрено-, но не дофаминовые рецепторы, проявляется только в отношении возбуждающего нейроны эффекта катехоламинов. Это согласуется с результатами работ, которыми установлено, что возбуждающее влияние НА и мезатона на нейроны коры мозга обратимо подавляется классическими  $\alpha$ -адренолитиками: фентоламином и феноксibenзамином.

На основании изложенных данных, полученных методом фармакологического анализа, можно предполагать существование следующих типов адренорецепторов:  $\alpha_1$ -рецепторы адренергического возбуждения и сокращения гладких мышц и адренергического возбуждения нервных клеток;  $\alpha_2$ -рецепторы адренергического торможения гладких мышц органов желудочно-кишечного тракта и некоторых нервных клеток;  $\beta_1$ -адренорецепторы, опосредующие влияние катехоламинов на сердце, гладкие мышцы желудочно-кишечного тракта и, возможно, липолитический эффект КА;  $\beta_2$ -адренорецепторы, через посредство которых осуществляется вазо-, бронходилатация, понижение тонуса гладких мышц матки и гликогенолиз в скелетных мышцах;  $\gamma$ -адренорецепторы печеночного гликогенолиза и, возможно, липолиза; ДА<sub>T</sub>-тормозные дофаминовые рецепторы нервных клеток.

Различия в фармакологических свойствах адренорецепторов отражают их истинные различия, понимаемые в том смысле, что катехоламинергические рецепторы разных типов отличаются своей молекулярной организацией, в том числе и прежде всего — структурой активных центров. В свою очередь тип рецептора в значительной мере определяет пути, сопрягающие рецепторный стимул с конечным фармакологическим эффектом. Причина этой соподчиненности кроется, вероятно, в особенностях кооперативного взаимодействия каждого типа рецепторных макромолекул с их ближайшим макромолекулярным окружением в цитоплазматической мембране клеток.

**Конформационные изменения адренорецепторов и кооперативный принцип их функционирования.** Взаимодействие КА с адренорецепторами может быть представлено в виде следующего процесса:



адренорецептор;  $X$  — образование комплекса вещества с рецептором (AP).

Идея конформационных переходов рецепторов возникла по аналогии с изменением конформации ферментов, для которых конформацион-чувствительными методами установлены такие изменения в процессе взаимодействия с субстратами. Пока единственным доказательством существования конформационных переходов в рецептивных белках живых клеток служит феномен десенситизации — явления, при котором чувствительность клеток к агонисту уменьшается при повторных или длительном воздействии определенного агониста.

Подвергая в течение 15 мин воздействию норадреналина ( $10^{-5}$  г/мл) семявыносящие протоки крыс, было установлено,



что реакционная способность  $\alpha_1$ -адренорецепторов, о которой судили по изменению констант сродства к ним адренолитиков, снижается. Аналогичное влияние оказывает мезатон, но не ацетилхолин или серотонин. Последнее указывает на специфичность возникающей десенситизации и рецепторный уровень этого явления. Сродство адренолитиков к  $\alpha_1$ -адренорецепторам, уменьшенное воздействием НА, достигает исходных величин по истечении 15—20 мин, но восстанавливается гораздо медленнее в условиях аноксии или присутствии динитрофенола ( $10^{-4}$  г/мл). Исследование скоростей прямой и обратной реакций взаимодействия адренолитиков с  $\alpha$ -адренорецепторами показало, что в результате воздействия НА и в условиях аноксии изменяется константа скорости прямой реакции. Следовательно, именно образование комплекса адренорецептора с КА или адренолитиком сопровождается затратой энергии окислительного фосфорилирования.

Конформационные изменения  $\beta$ -адренорецепторов, наступающие в результате их взаимодействия с КА, также проявляются уменьшением сродства  $\beta$ -адренолитиков к адренорецепторам, но обеспечиваются за счет энергии гликолитических процессов.

Конформационные изменения адренорецепторов следует рассматривать как частный случай кооперативных и аллостерических переходов внутри белковых макромолекул. Будучи встроенными в цитоплазматическую мембрану клеток, адренорецепторы участвуют также в межмолекулярном кооперативном взаимодействии, наиболее наглядным примером которого служит взаимодействие  $\beta$ -адренорецепторов и аденилатциклазы.

В присутствии неионного детергента аденилатциклаза (миокарда кроликов) солюбилизируется из протоплазматических мембран. Освобожденная от детергента солюбилизированная аденилатциклаза, как и гранулярная, активируется фторидом ( $8 \cdot 10^{-3}$  М), но утрачивает способность активироваться норадрепалином. Способность солюбилизированной аденилатциклазы активизироваться КА почти полностью восстанавливается в присутствии фосфатидилинозитола. Связывание  $^3\text{H}$  — НА компонентами солюбилизированных мембран клеток миокарда не требует присутствия фосфолипидов. Это приводит к заключению, что  $\beta$ -адренорецептор и аденилатциклаза существуют как отдельные физические компоненты мембран клеток, но при участии фосфолипидов организованы в сложные рецепторно-ферментные ансамбли. Активация энзима в этом ансамбле достигается в силу межмолекулярного кооперативного взаимодействия, понимаемого в том смысле, что конформационные изменения рецептора, наступающие в момент взаимодействия с ним КА, индуцируют структурное соответствие субстрату активного центра энзима, чем обеспечивается повышение внутриклеточной концентрации циклического аденозинмонофосфата ( $\alpha$ -АМФ). Повышение концентрации последнего активирует  $\alpha$ -АМФ-зависимые протеинкиназы, посредством которых осуществляется обратимое фосфорилирование специфических белков клеточных мембран или саркоплазматического ретикулу-



ма, в результате чего происходит изменение ионной проницаемости мембран или их Са-связывающей способности, либо ретикулума.

Есть основания предполагать, что  $\alpha$ -адренорецепторы функционируют в цитоплазматической мембране будучи компонентом рецепторноворотных устройств, в которых кооперативное взаимодействие рецептора и субстрата ионных ворот осуществляется также при участии фосфолипидов.

**Механизмы сопряжения в адренергических реакциях.** Различия молекулярной организации адренергических рецепторов и

Таблица 9

| Агонист      | Электрогенный                            | Неэлектрогенный                                  | Смешанный              |
|--------------|--|--|------------------------|
| Норадреналин | Прямокишечно-<br>копчиковая мыш-<br>ца ↑ | Семявыносящий<br>проток ↑                        | Воротная вена ↑        |
| Изадрин      |  | Брюшная аорта ↑<br>Трахея * ↓<br>Воротная вена ↓ | Желудок ↓<br>Желудок ↓ |

\* Морской свинки; в других случаях — крысы; ↑ — сокращение; ↓ — расслабление.

форм участия их в кооперативном взаимодействии с макромолекулярным окружением в протоплазматических мембранах клеток определяет различие путей, сопрягающих активацию адренорецепторов с конечным эффектом. Лучше всего изучено сопряжение в адренергических реакциях гладких мышц и сердца. Классический путь электрогенного сопряжения, хорошо изученного на препарате моторный нерв — волокно скелетной мышцы, в адренергических реакциях встречается редко. В чистом виде он описан для прямокишечнокопчиковой мышцы крыс (И. И. Абрамец, 1977). Воздействие НА ( $10^{-7}$ — $10^{-4}$  г/мл) на  $\alpha$ -адренорецепторы этой мышцы вызывает деполяризацию, величина которой возрастает с увеличением концентрации агониста и соответственно увеличивается сократительный ответ мышцы. Деполяризация обусловлена повышением проницаемости мембран мышечных клеток для ионов натрия, поскольку устраняется новокаином ( $10^{-3}$  М). Соответственно и сокращение мышцы под влиянием НА не развивается в присутствии новокаина или при замене хлорида натрия в растворе Кребса эквивалентным количеством хлорида аммония.

С другой стороны, НА вызывает сокращение гладких мышц семявыносящего протока и брюшной аорты крыс, не изменяя мембранного потенциала покоя (МПП). На других объектах выявляются смешанные механизмы сопряжения (табл. 9).

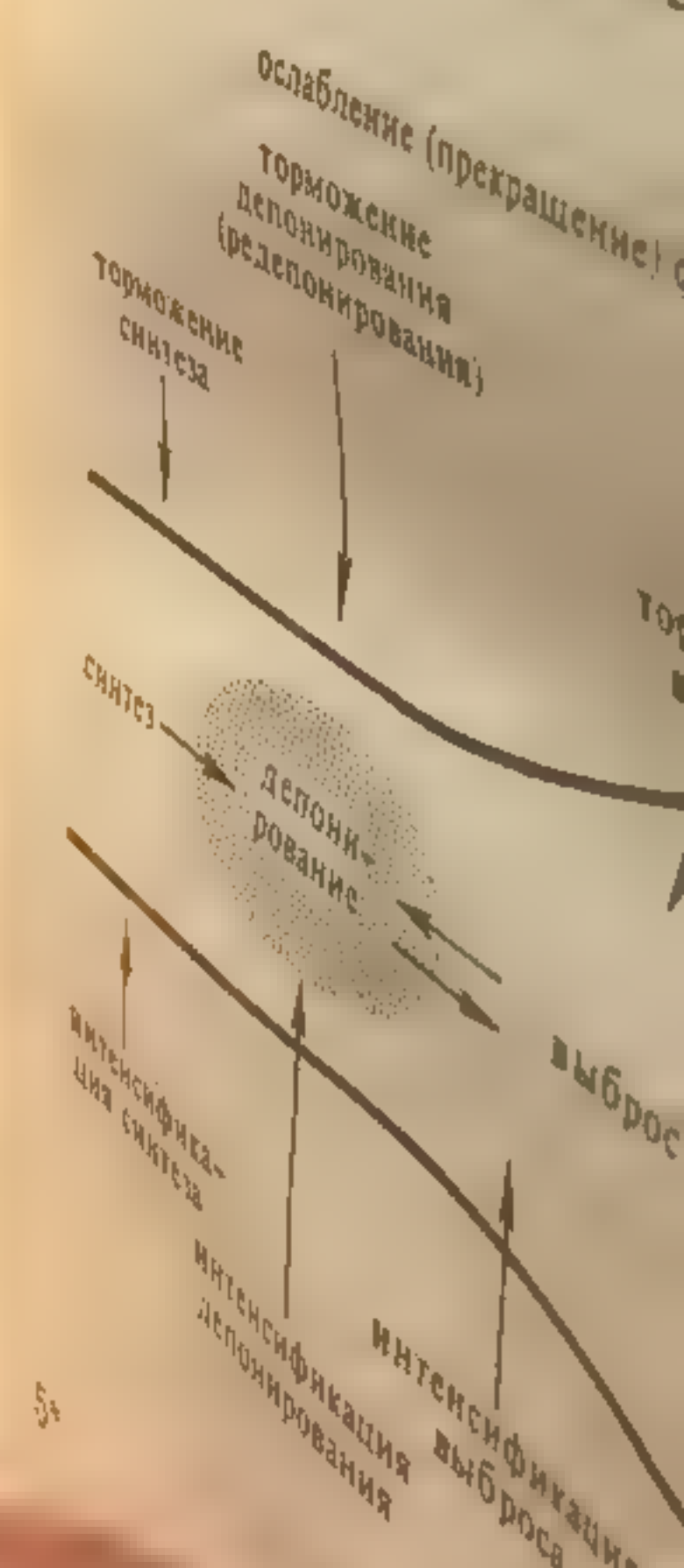
Параллельное изучение электрических явлений в гладких мышцах и трансмембранного движения ионов при воздействии разных КА позволяет утверждать, что активация  $\alpha$ -адренорецепторов изменяет проницаемость мембран мышечных клеток для

... в которых ...  
... активация ...  
... точным ...  
... механизмы ...  
... в-адренергическим ...  
... способностью ...  
... Са-аккумуляции ...  
... гладких мышечных ...  
... в-адренергических ...  
... вами, вероятно через ...  
... иевого насоса.

Хорошо и давно известны ...  
нов к КА (и другим ...  
деляются структурой ...  
рецепторного взаимодей ...  
ких мышц такие механизмы, ...  
связывание или откачивание ...  
ваются, как правило, пороги ...  
 $10^{-8}$  г/мл); повышение пр ...  
ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и процесс Na-Са ...  
ми порядка  $10^{-8}$ — $10^{-6}$  г/м ...  
концентрациях  $10^{-7}$ — $10^{-6}$  г/м

## § 2. Фармакология

Принципы лекарственной ...  
сов. Фармакологическая рег ...  
жет осуществляться путем в





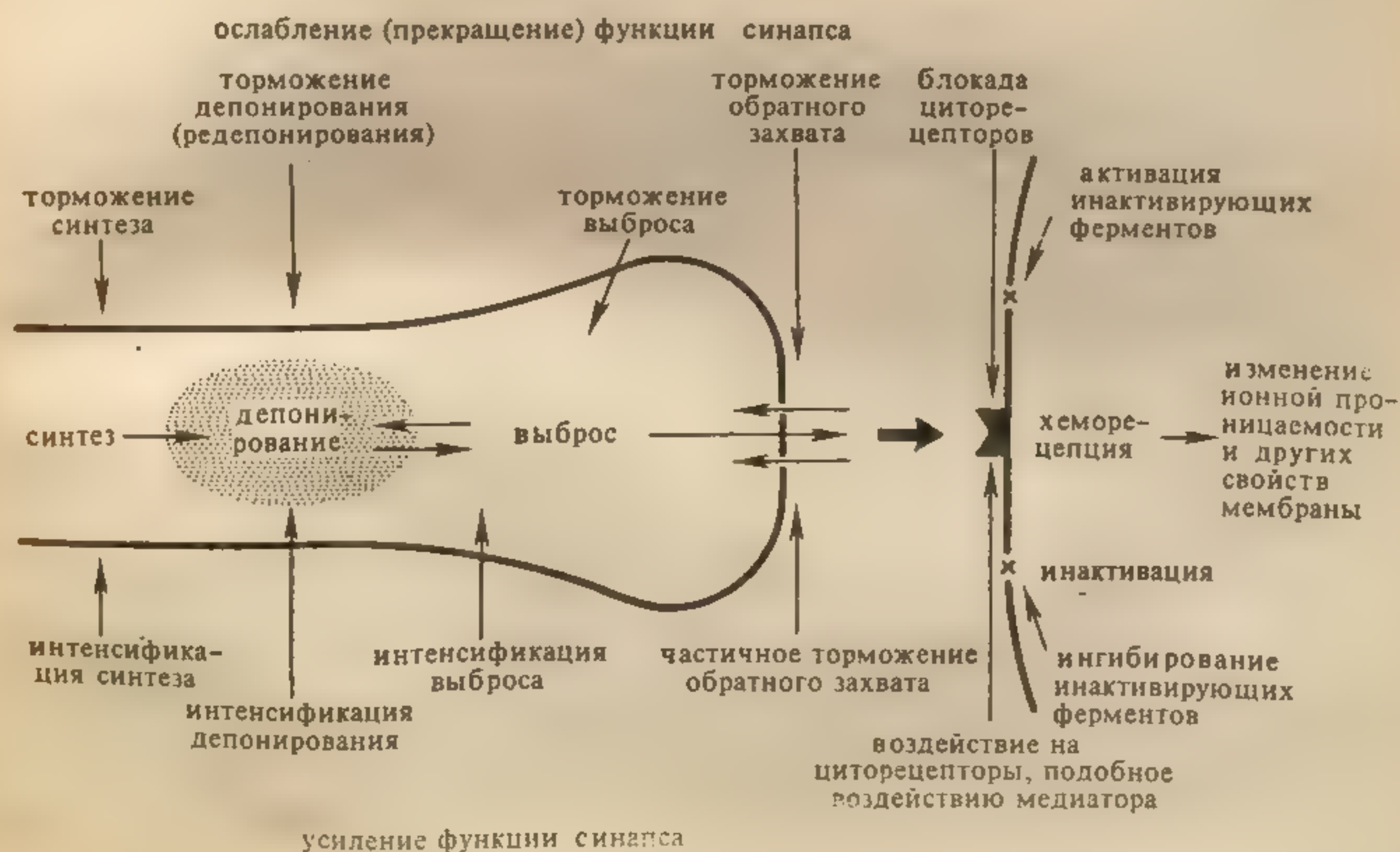
ионов натрия и кальция ( $\alpha_1$ -рецепторы) или калия ( $\alpha_2$ -рецепторы). Активация  $\alpha_1$ -адренорецепторов часто сопровождается внутриклеточным высвобождением  $\text{Ca}^{2+}$  через посредство электрогенного механизма или без него. Важнейшим элементом сопряжения в  $\beta_1$ -адренергических процессах является усиление Са-связывающей способности саркоплазматического ретикулума (миокард) или Са-аккумулирующих элементов протоплазматических мембран гладкомышечных клеток. Основным сопрягающим механизмом в  $\beta_2$ -адренергических реакциях выступает побуждаемая катехоламинами, вероятно через посредство ц-АМФ, интенсификация кальциевого насоса.

Хорошо и давно известные различия в чувствительности органов к КА (и другим медиаторам и гормонам) прежде всего определяются структурой сопряжения, а не особенностями агонист-рецепторного взаимодействия. В адренергических реакциях гладких мышц такие механизмы, как неэлектрогенное высвобождение, связывание или откачивание внутриклеточных ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , вызываются, как правило, пороговыми концентрациями КА ( $10^{-10}$ — $10^{-8}$  г/мл); повышение проницаемости мембран для внешних ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и процесс Na-Са-обменной диффузии — концентрациями порядка  $10^{-8}$ — $10^{-6}$  г/мл, а механизмы электрогенеза — при концентрациях  $10^{-7}$ — $10^{-6}$  г/мл и выше.

## § 2. Фармакология адренергических синапсов

Принципы лекарственной регуляции адренергических процессов. Фармакологическая регуляция адренергических функций может осуществляться путем воздействия определенных химических

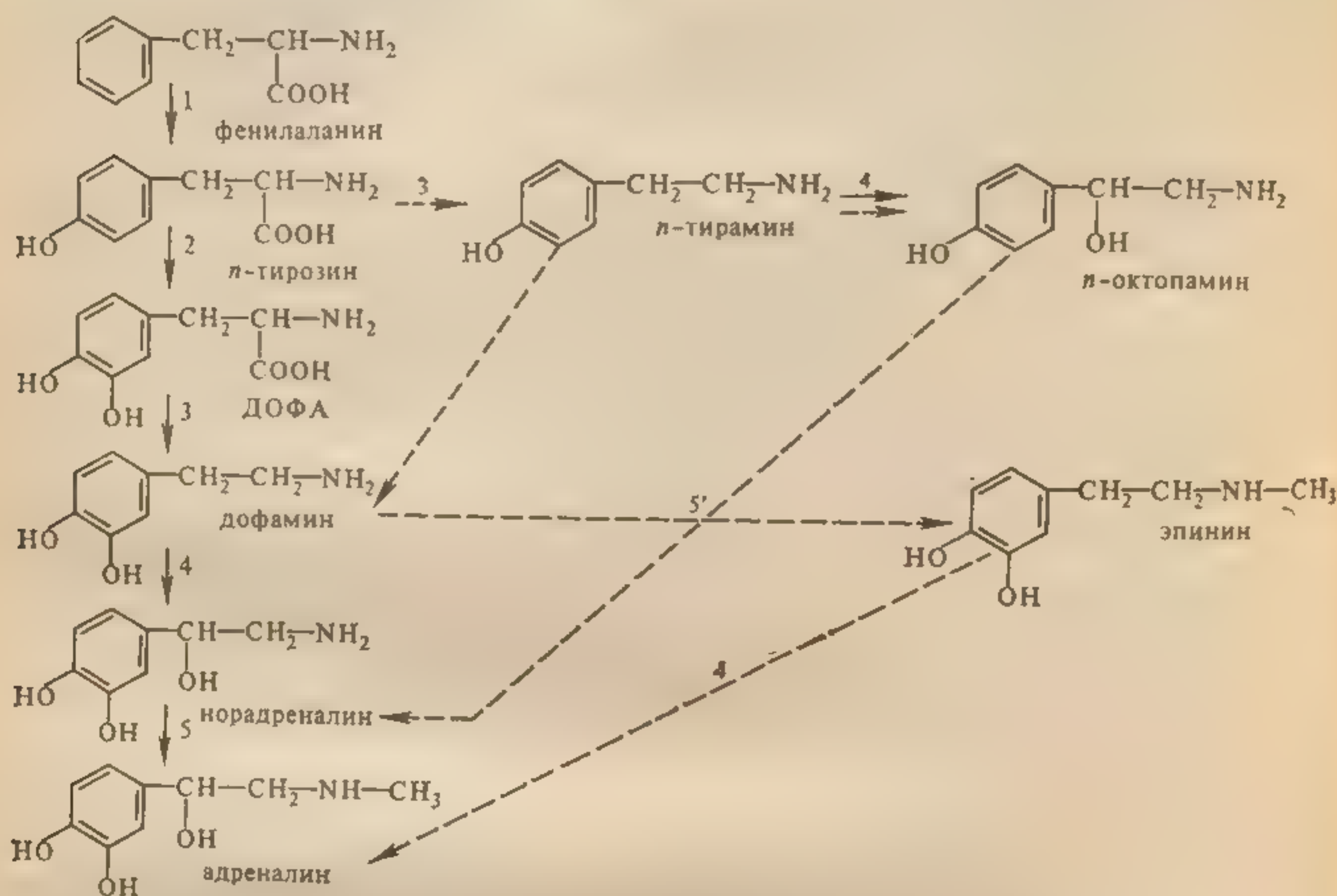
Схема 4





веществ на любой из биохимических процессов, происходящих в адренергическом синапсе. Принципиально возможные пути фармакологического воздействия на эти процессы представлены на схеме 4.

**Фармакологическая регуляция биосинтеза катехоламинов.**  
В адренергических нейронах синтез КА многостадийен:



Лимитирующей является стадия превращения *n*-тирозина в 3,4-диоксифенилаланин (ДОФА), катализируемая тирозингидроксилазой. Именно поэтому нагрузка животных фенилаланином или *n*-тирозином не изменяет содержания КА в адренергических нейронах или надпочечниках, но введение *L*-ДОФА, например мышам (100 мг/кг), увеличивает содержание КА в моче и тканях, особенно ДА в мозгу, и приводит к повышению функции симпатoadреналовой системы, что находит выражение в пилоэрекции, эйякуляции, тахикардии, «хвостовом феномене» Штрауба, усилении локомоторной активности и агрессивности животных.

С другой стороны, торможение биосинтеза КА легче всего достигается воздействием ингибиторов тирозингидроксилазы. Мощные избирательно действующие ингибиторы этого фермента —  $\alpha$ -метил-*n*-тирозин (МПТ) и его метиловый эфир (Н-22/68). В дозе 80 мг/кг МПТ понижает содержание ДА и НА в мозге, сердце, селезенке морских свинок, не изменяя содержания серотонина. Хотя длительная стимуляция нерва не ведет к доказуемому понижению содержания НА в терминалях аксонов адренергических нейронов при ингибировании тирозингидроксилазы, уже



через 30 мин гладкая мышца радужки не отвечает на раздражение симпатического нерва ввиду резкого снижения содержания нейронального НА. Образование ДА и НА из ДОФА тормозится  $\alpha$ -метил-ДОФА и  $\alpha$ -метил-*m*-тирозином — ингибиторами ДОФА-

Таблица 10

| Соединение  | Основной ингибируемый фермент               | Другие ингибируемые ферменты   |
|---|---|--|
| Дофацетамид   | Тирозингидроксилаза (КФ 1.10.3.1)           | Фенилаланингидроксилаза, триптофангидроксилаза, катехол- <i>o</i> -метилтрансфераза  |
| 2-(3,4-диоксифенил)-пентаноламид  | То же                                       | То же  |
| $\alpha$ -Этокси-4,3-диоксифенилацетамид                                  | »   | »  |
| $\alpha$ -Изопропокси-2,3-диоксифенилацетамид                             | »   | »  |
| $\alpha$ -Метил- <i>p</i> -тирозин  | »   | (избирательно)   |
| $\alpha$ -Метил-ДОФА  | <i>L</i> -ДОФА-декарбоксилаза (КФ 4.1.1.26) | Фенилаланингидроксилаза, тирозингидроксилаза, триптофангидроксилаза, 5-окситриптофандекарбоксилаза, гистидиндекарбоксилаза |
| $\alpha$ -Метил- <i>m</i> -тирозин  | То же                                       | То же  |
| 3,4-Диоксипропил, $\alpha$ -метил, $\alpha$ -гидразинопропионовая кислота | »   | 5-Окситриптофандекарбоксилаза, дофамин- $\beta$ -оксидаза  |
| N-Метил, N-(3-оксибензил)-гидразин (NSD-1034)                             | »   | То же  |
| 3-Оксибензилоксамин (NSD-1024)  | »   | »  |
| Бензилоксамин   | »   | »  |
| Диэтилдитиокарбамат   | Дофамин- $\beta$ -оксидаза (КФ 1.14.2.1)    | Тирозингидроксилаза  |
| Дисульфирам (антабус)   | То же                                       | То же  |
| U-10157   | »   | »  |
| FLA-63  | »   | »  |
| 8-Оксихинолин   | »   | Катехол- <i>o</i> -метилтрансфераза  |
| $\alpha$ , $\alpha'$ -Дипиридил   | »   | То же  |
| Этилендиаминтетраацетат   | »   | »  |

декарбоксилазы. Обе аминокислоты понижают содержание КА в органах и нарушают также биосинтез серотонина. Гидроксилирование дофамина, ведущее к образованию НА, катализируется дофамин- $\beta$ -оксидазой. Как металлсодержащий фермент, он эффективно ингибируется многими комплексодами, в частности дисульфирамом и другими производными дитиокарбаминовой кислоты. Наибольшую активность проявляет соединение FLA-63. Все они вызывают значительное снижение содержания НА в сердце, селезенке, надпочечниках, головном мозге; содержание ДА при



этом несколько возрастает. Другие ингибиторы синтеза КА менее эффективны и обладают невысокой избирательностью действия. В табл. 10 приведены ингибиторы биосинтеза катехоламинов.

Все этапы синтеза КА, включая образование ДА, осуществляются в нейроплазме, но образование НА из ДА протекает в везикулах, поскольку только в них содержится дофамин- $\beta$ -оксидаза. В хромаффинных клетках надпочечников, где имеется фермент фенилэтанол-амин-N-метилтрансфераза (КФ 2.1.1), отсутствующий в адренергических нейронах, НА метилируется до адреналина.

**Фармакологическая регуляция депонирования катехоламинов в нейрональных везикулах.** Морфологическим субстратом, осуществляющим депонирование гормона или медиатора, являются субклеточные гранулярные частицы, локализованные в хромаффинных клетках или терминалях аксоадренергических нейронов. Эти гранулы выделены дифференциальным ультрацентрифугированием гомогенатов мозгового вещества надпочечников и симпатических нервов. Их отождествляют с везикулами (пузырьками), обнаруженными при электронно-микроскопическом исследовании названных тканей.

Помещенные в среду с низким содержанием аминов гранулы поглощают ДА, НА, адреналин против градиента концентрации. Поглощение КА усиливается в присутствии АТФ и ионов  $Mg^{2+}$ , т. е. протекает с затратой энергии. Процесс осуществляется при участии мембраны везикул, так как обработка надпочечниковых гранул фосфолипазой, нарушающей мембрану, подавляет поглощение КА.

Около 80% КА в гранулах прочно связаны, образуя комплекс с АТФ (4:1), ионами  $Mg^{2+}$  и, вероятно, белками. 20% КА не прочно связаны с субстратом гранул и легко освобождаются из депо. Они могут спонтанно выделяться из везикул в цитоплазму нейрона или хромаффинной клетки, и наоборот, содержащиеся в цитоплазме КА способны поглощаться везикулами, пополняя депо лабильно и прочно связанными аминами. Существование обмена между внутри- и экстрагранулярным депо КА объясняет, почему повышение концентрации последних в аксоплазме увеличивает содержание КА в гранулах. Именно поэтому введение животным ДОФА в качестве предшественника КА или ингибиторов моноаминоксидазы (гармалин, фенамин, паргелин, ипразид, ниламид) сопровождается у многих видов животных повышением содержания КА в гранулах и в конечном итоге усилением импульсного высвобождения медиатора терминалями аксонов.

Процесс АТФ-зависимого поглощения норадреналина в аксональных гранулах тормозится соединениями, принадлежащими к разным классам химических веществ (табл. 11). Наиболее мощным ингибитором, подавляющим поглощение КА гранулами надпочечников, селезеночных нервов или нейронов ЦНС, является резерпин (табл. 11). Он понижает содержание НА, ДА и серотонина в органах и тканях. При электронно-микроскопическом исследовании установлено, что резерпин истощает запасы НА в гра-



нулах окончаний симпатических нервов и синаптические везикулы лишаются зернистости. Аналогичным образом он действует на процесс депонирования моноаминов в гранулах нейронов ЦНС и хромаффинных клеток надпочечников.

«Опустошающее» влияние резерпина осуществляется главным образом торможением гранулярного поглощения НА или ДА, спонтанно «утекающего» из гранул в процесс обмена между внутри- и экстрагранулярным депо медиатора, а также торможением

Таблица 11

| Вещество                        | Концентрация, М     | Степень торможения, % |
|---------------------------------|---------------------|-----------------------|
| Резерпин                        | $1,4 \cdot 10^{-5}$ | 85—100                |
| Сегонтин                        | $3 \cdot 10^{-5}$   | 100                   |
| Хлорпромазин (аминазин)         | $3 \cdot 10^{-5}$   | 90                    |
| л-Оксимеркурийбензойная кислота | $8,4 \cdot 10^{-5}$ | 100                   |
| 2,4-Динитрофенол                | $6 \cdot 10^{-5}$   | 25                    |
| Феноксibenзамин                 | $2 \cdot 10^{-4}$   | 40                    |
|                                 | $10^{-4}$           | 25                    |
| Кокаин                          | $10^{-4}$           | 0                     |
| Оубаин (G-строфантин)           | $5 \cdot 10^{-5}$   | 0                     |

редепонирования медиатора, высвобожденного нервным импульсом и поступившего обратно в аксоплазму из синаптической щели. Резерпин также препятствует переходу ДА, синтезирующегося в аксоплазме, в гранулы, где он депонируется (в дофаминергических нейронах) или превращается в НА (в адренергических нейронах). В последнем случае резерпин косвенно тормозит синтез НА, уменьшая его запасы в гранулах. Экстрагранулярные депо КА резерпином не опустошаются.

В принципе аналогично резерпину действуют сегонтин (прениламин), тетрабеназин, соединение Ro-4—1284. Аминазин, галоперидол, тиоловые яды также сильно подавляют поглощение КА и депонирование их гранулами (табл. 11). Однако яды, нарушающие окисление или окислительное фосфорилирование (цианиды; 2,4-динитрофенол), слабо воздействуют на этот процесс, а оубаин, кокаин, имипрамин, даже в высоких концентрациях, не влияют на поглощение аминов аксональными гранулами.

**Фармакологическая регуляция нейронального и экстранейронального захвата катехоламинов.** В лаборатории Ю. Аксельрода (1960) впервые установлено, что меченный тритием норадреналин ( $^3\text{H}$ -НА), введенный кошкам, связывается надпочечниками, сердцем, селезенкой, где его содержание возрастает уже через час после инъекции.  $^3\text{H}$ -НА поглощается также срезами мозга. В опытах с гомогенатами сердца и слюнной железы показано, что 80%  $^3\text{H}$ -НА поглощается фракцией гранул, а методом электронно-микроскопической автордиографии найдено, что введенный  $^3\text{H}$ -НА поступает в окончания симпатических нервов и накапливается исключительно в синаптических везикулах.



Поглощение  $^3\text{H}$ -НА тканями тормозится, если животным предварительно вводится кокаин. Имипрамин и дезметилимипрамин тормозят поглощение  $^3\text{H}$ -НА срезами коры мозга в концентрациях ( $10^{-9}$  М) в 1000—10 000 раз меньших, чем резерпин, аминазин или галоперидол. Таким образом, поглощение КА тканями эффективно подавляется как раз теми веществами (кокаин, трициклические антидепрессанты), которые не оказывают влияния на поглощение

Таблица 12

| Захват-1 (сердце крыс)   | Захват-2 (сердце крыс)   | Поглощение дофамина (полосатое тело мозга крыс)  |
|--|--|--|
| Дезипрамин (0,01) *<br>(—)-Метараминол (0,08)<br>(+)-Фенамин (0,18)<br>(—)-Фенамин (3,7)<br>Кокаин (0,38)<br>Феноксбензамин (0,78) | SKF-550 (0,08)<br>SKF-625 (0,25)<br>Феноксбензамин (2,8)<br>Эстрадиол (2,0)<br>Кортикостерон (2,7)<br>(±)-Метанефрин (2,9) | (+)-Фенамин (0,1)<br>(—)-Фенамин (0,1)<br>Бензтропин (0,03)<br>Аминазин (3,1)<br>Дезипрамин (50,0) |

\* Цифры в скобках — концентрация в мкМ, при которой поглощение аминов подавляется на 50%.

КА нейрональными гранулами. Это обстоятельство и исследование кинетики поглощения  $^3\text{H}$ -НА срезами мозга привели к заключению, что  $^3\text{H}$ -НА посредством активного транспорта через мембрану аксона поступает вначале в экстрагранулярное депо, где он лабильно связан и откуда медленно перемещается в гранулы.

Далее обнаружилось, что, хотя денервация сильно уменьшает поглощение  $^3\text{H}$ -НА тканями, отсутствие симпатических нервов в органе полностью не исключает возможности захвата амина. Все эти наблюдения послужили основанием для выделения двух типов поглощения катехоламинов. Нейрональный и экстранейрональный захват аминов Iversen (1965, 1973) обозначил «uptake-1» и «uptake-2».

Захват-1 — весьма специфический процесс. Нейрональному поглощению лучше всего подвергается естественный медиатор, т. е. (—)-норадреналин ( $K_m = 0,27 \cdot 10^{-6}$  М). Его правовращающий изомер, как и адреналин, в 4—5 раз слабее поглощается терминалями адренергических аксонов; изопропилнорадреналин (изадрин) вообще не поглощается. Синапсомы норадренергических нейронов (гипоталамуса крыс) также аккумулируют (—)-НА лучше, чем (+)-НА ( $K_m = 0,2$  и  $0,8$  мкМ соответственно) или ДА. Захват-1 в сердце, селезенке кошки, в ткани мозга ингибируется малыми концентрациями оубаина, кокаина и особенно (—)-метараминола и дезипрамина (табл. 12), которые, очевидно, блокируют систему активного переноса, осуществляющую активный транс-



порт НА через мембрану аксонов. Ингибиторами захвата-1 являются также симпатолитики — производные гуанидина (гуанетидин, бетанидин).

Механизм захвата-1 терминалями дофаминергических нейронов отличается от описанного для синапсом норадренергических нейронов. Синапсомы дофаминергических нейронов (полосатого тела мозга крыс) ■ 6—7 раз интенсивнее поглощают ДА, чем НА; оба оптических изомера НА одинаково хорошо поглощаются этими синапсосами. Захват КА синапсосами дофаминергических нейронов лишь слабо ингибируется имипрамином и дезипрамином, но сильно подавляется (—)-фенамином, который мало активен как ингибитор захвата-1 в сердце (табл. 12), а также производными тропина, например атропином, скополамином, бензтропином.

Захват-2 полностью лишен стереоспецифичности. Экстранейрональному поглощению подвергаются оба оптических изомера НА с одинаковой скоростью. Изадрин и адреналин подвергаются экстранейрональному захвату при много меньших концентрациях, чем НА ( $K_m = 23,52, 252 \cdot 10^{-6}$  М соответственно). Исключая феноксбензамин, все ингибиторы захвата-1 не оказывают влияния на захват-2. Ингибиторы последнего — многие стероидные гормоны [(+)-метанефрин], а также соединения SKF-550 и SKF-625 (табл. 12).

Системы захвата-1 и захвата-2 имеют большое функциональное значение, ибо являются механизмами «убирания» медиатора, высвобожденного нервным импульсом из окончаний аксонов адренергических нейронов. Трудно сказать, какой из этих типов захвата важнее для инактивации медиатора. В синапсах ЦНС, по-видимому, инактивация осуществляется преимущественно механизмом захвата-1, с помощью которого из синаптической щели удаляется до 80% медиатора. То же относится к органам, имеющим высокую плотность симпатической иннервации, например к третьему веку кошки. Но даже и в такого рода органах исчезновение адреналина из синаптической щели ввиду его невысокого сродства к системе захвата-1 достигается, вероятно, механизмом захвата-2. Роль последнего особенно важна в органах с малой плотностью адренергических терминалей и в инактивации изадрина. Это объясняет, почему влияние (—)-НА на третье веко кошки усиливается кокаином в 40 раз, а адреналина — только ■ 4 раза и почему эффекты изадрина в опытах на трахее свинки потенцируются феноксбензамином и метанефрином.

Система захвата-1 обеспечивает перемещение экзогенных и эндогенных КА внутрь аксонов адренергических нейронов, но насыщается уже при концентрациях порядка 0,5 мкг/мл. Система захвата-2 осуществляет транспорт аминов в ненейрональные ткани, где КА метаболизируются. Система функционирует при любых наружных концентрациях КА, но при концентрациях, близких к насыщающей (20 мкг/мл) или блокаде метаболизирующих ферментов, особенно катехол-о-метилтрансферазы, ее значение и функциональная активность резко возрастают.



Фармакологическая регуляция процесса высвобождения медиатора адренергетических нервов. Содержащийся в адренергических аксонах НА спонтанно освобождается в синаптическую щель окончаниями нервов. Электрическое раздражение симпатического нерва приводит к значительному выделению медиатора. Высвобождение НА из терминалей адренергических аксонов нервным импульсом происходит иначе, чем спонтанное высвобождение медиатора. Об этом свидетельствует значительное различие в ско-

Таблица 13

| Вещество                  | Концентрация, М     | Относительное высвобождение (контроль = 1) |
|---------------------------|---------------------|--|
| Ацетилхолин               | $5 \cdot 10^{-4}$   | 1  |
| Бретилий (орнид)          | $10^{-4}$           | 1  |
| Гуанетидин (октадин)      | $2 \cdot 10^{-4}$   | 1  |
| Кокаин                    | $3 \cdot 10^{-4}$   | 0,9  |
|                           | $3 \cdot 10^{-3}$   | 0,5  |
| Резерпин                  | $10^{-7} - 10^{-5}$ | 0,1  |
| Аминазин                  | $10^{-5}$           | 0,5  |
| Феноксбензамин            | $3,3 \cdot 10^{-6}$ | 0,67                                       |
| Дофамин                   | $1,7 \cdot 10^{-4}$ | 1  |
| Метараминол               | $10^{-4}$           | 1,15                                       |
| Тирамин                   | $6 \cdot 10^{-5}$   | 1,4  |
| $\alpha$ -Метил-м-тирамин | $10^{-4}$           | 2,1  |

рости обоих процессов, слабая зависимость импульсного высвобождения от изменений температуры (спонтанное высвобождение сильно уменьшается при снижении температуры до  $24^{\circ}\text{C}$ ), независимость спонтанного и зависимость импульсного высвобождения от концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ . В отличие от спонтанно высвобождаемого НА при нервном импульсе медиатор появляется одновременно с белками, хромогранином и дофамин- $\beta$ -оксидазой, которые также содержатся внутри пузырьков.

Спонтанное высвобождение НА из окончаний симпатических нервов осуществляется путем диффузии молекул медиатора из цитоплазмы нервных окончаний в синаптическую щель через аксональную мембрану. В синаптическую щель диффундирует тот норадреналин, который лабильно связан в гранулах и спонтанно «утекает» из везикул в аксоплазму. Спонтанное высвобождение НА из гранул селезеночного нерва быка усиливается метараминолом, тирамином,  $\alpha$ -метил-м-тирамином (табл. 13), фенамином и другими не прямо действующими симпатомиметиками. При опустошении резерпином запасов НА в гранулах симпатических нервов тирамин не вызывает у кошек свойственных ему симпатомиметических эффектов, в частности, не повышает артериального давления. Блокада моноаминоксидазы, инактивирующей аксоплазматический НА, увеличивает количество медиатора, высвобождаемого тирамином. Это значит, что высвобождаемый из везикул НА первоначально попадает в цитоплазму аксона и оттуда диффунди-



рует через мембрану аксона в синаптическую щель (рис. 18).

Непрямой симпатомиметик может высвободить НА из везикул, только поступив в аксоплазму, т. е. преодолев мембрану аксона. Поскольку кокаин противодействует симпатомиметическим эффектам тирамина, полагают, что не прямые симпатомиметики проникают через аксональную мембрану при посредстве системы захвата-1. С другой стороны, загружая эту систему, не прямые симпатомиметики тормозят обратный захват НА, т. е. их симпатомиметический эффект обусловлен как усилением высвобождения, так и торможением нейронального захвата медиатора. Последний компонент особенно выражен в действии (+)-фенамина и касается его влияния как на норадренергические, так и дофаминергические нейроны.

Под влиянием нервного импульса НА из депо высвобождается путем экзоцитоза: возбуждение окончаний адренергических аксонов приводит к слиянию мембраны некоторых везикул с пресинаптической мембраной аксона, после чего место слияния растворяется и содержимое везикулы извергается в синаптическую щель (рис. 18). Повышение в среде концентрации  $Ca^{2+}$  усиливает эффект раздражения симпатических нервов. При этом ионы  $Ca^{2+}$  играют роль фактора, ускоряющего расщепление комплекса НА с АТФ и белком, в виде которого медиатор депонируется в гранулах, или является причиной сокращения микрофиламентов, в результате которого содержимое везикул извергается в синаптическую щель. Ацетилхолин может тормозить, но в присутствии атропина усиливает импульсное высвобождение медиатора окончаниями адренергических аксонов. Этот процесс тормозится норадреналином и дофамином по мере возрастания их концентрации в синаптической щели. Ангиотензин усиливает, а простагландины  $E_1$  и  $E_2$  тормозят высвобождение медиатора.

Мощными ингибиторами процесса импульсного высвобождения медиатора являются симпатолитики: производные гуанидина, бретилий и 2,6-ксилиловые эфиры холина.

Симпатолитическое действие гуанетидина (октадина) отчасти обусловлено истощением запасов медиатора в адренергических аксонах ввиду глубокого торможения механизма захвата-1 и невозможности восполнения запасов медиатора путем его обратного поступления в аксон. Известное значение может иметь нарушение проведения импульса по аксону адренергического нейрона, возник-

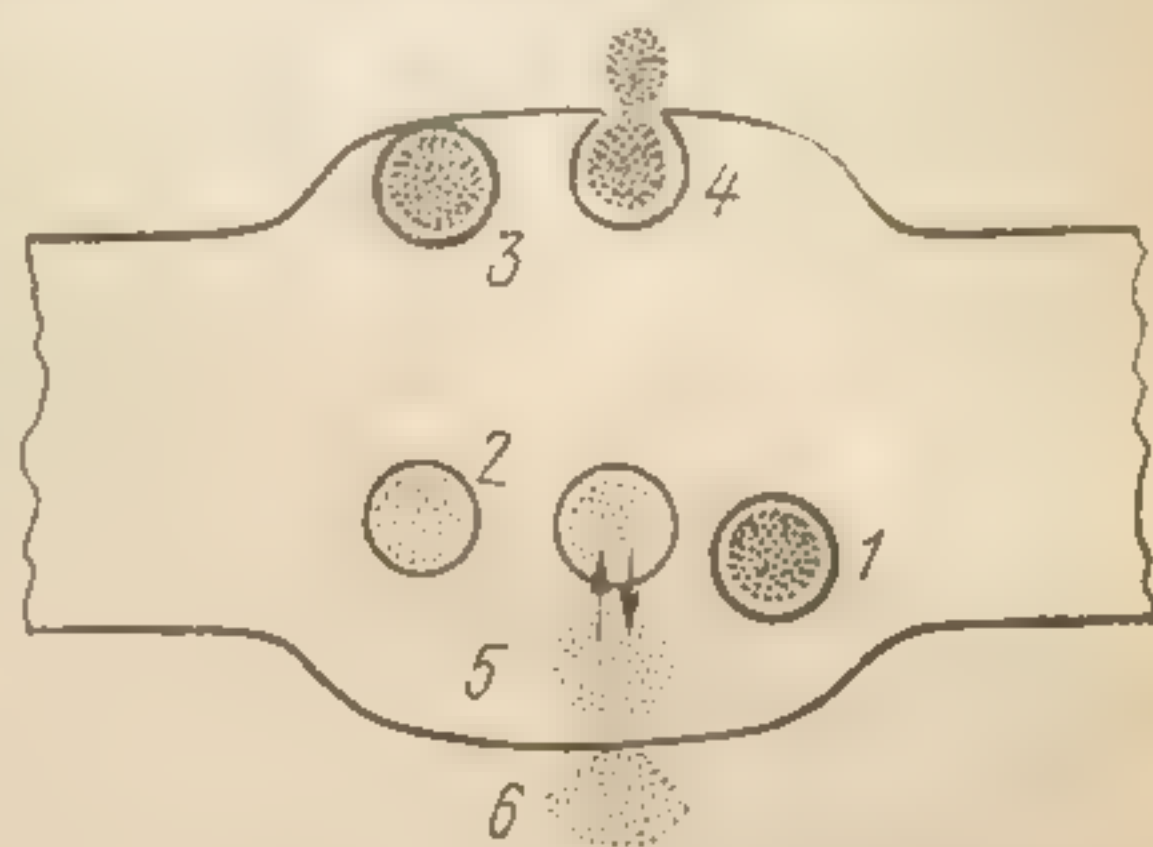


Рис. 18. Пути высвобождения медиатора норадреналина из варикозно расширенной терминали аксона адренергического нейрона:

1 — «крупные, электронно-плотные» везикулы; 2 — «мелкие электронно-прозрачные» везикулы; 3 — первая фаза экзоцитоза (слияние мембран везикулы и аксона); 4 — заключительная фаза экзоцитоза (извержение содержимого везикулы в синаптическую щель); 5 — спонтанное высвобождение молекул норадреналина из везикул в аксоплазму; 6 — высвобождение норадреналина из цитоплазмы аксона в синаптическую щель



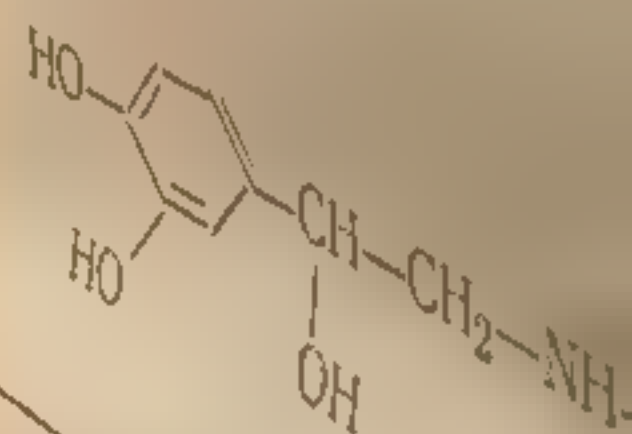
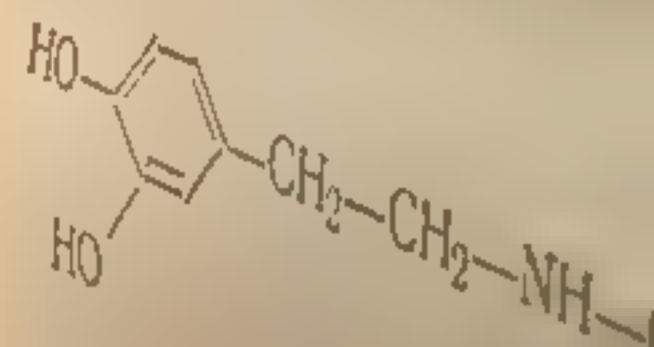
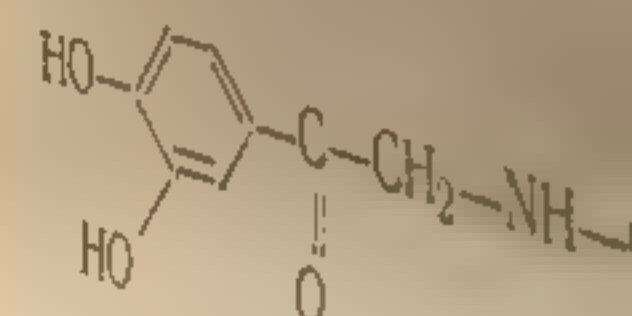
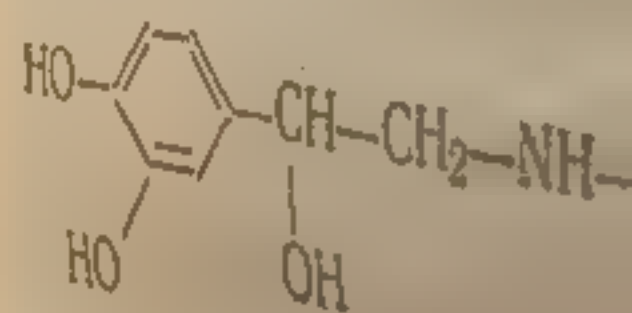
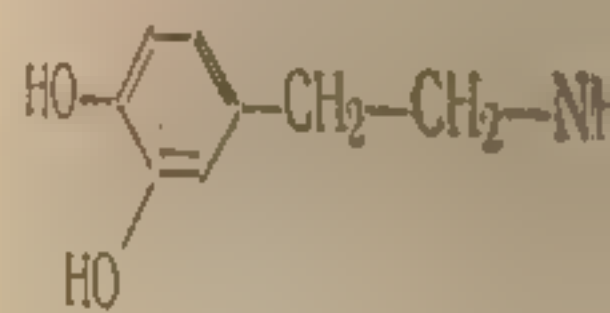
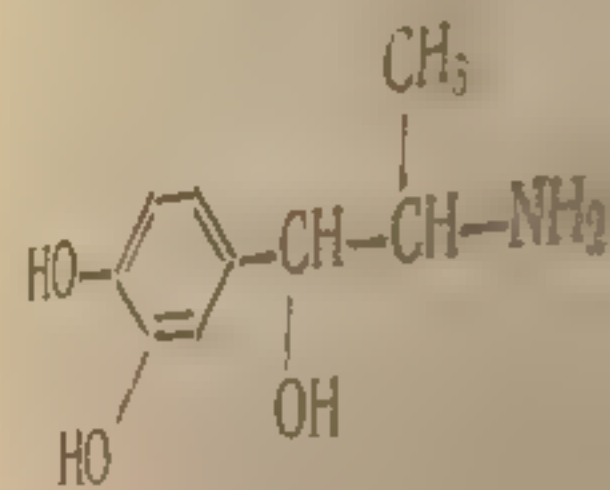
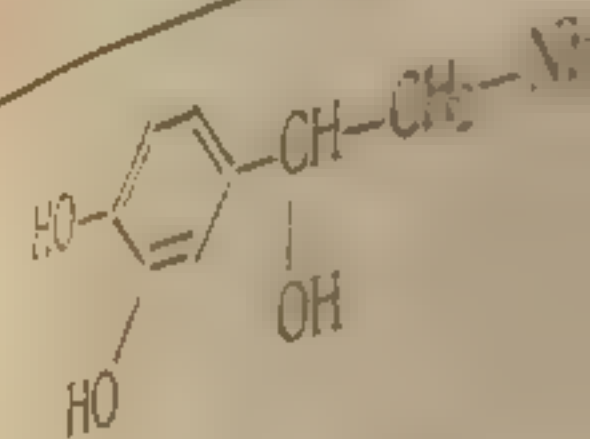
кающее вследствие инактивации симпатолитиком натриевых каналов в мембране аксона, т. е. его тетродотоксиноподобное действие. Важным компонентом механизма симпатолитического действия гуанетидина и бретилия (орнида) является их способность противодействовать участию  $\text{Ca}^{2+}$  в процессах высвобождения НА нервным импульсом. Допуская существование ацетилхолинового пускового механизма ■ адренергической медиации, полагают, что влияние ацетилхолина на симпатическую передачу импульсов обусловлено увеличением проницаемости  $\text{Ca}^{2+}$  через мембрану постганглионарных волокон, а блокирующий эффект бретилия и гуанетидина связан с угнетением проницаемости мембраны для  $\text{Ca}^{2+}$ . Действительно, блокада гуанетидином реакции кишечника на электрическую стимуляцию симпатического нерва устраняется при повышении концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в среде.

**Адренергические вещества, воздействующие на постсинапс.** До сих пор рассматривались фармакологические средства, которые изменяют функцию адренергических синапсов путем воздействия на процессы (синтез, депонирование, захват, высвобождение медиатора), протекающие ■ пресинапсе. Другую группу веществ, способных изменять функции адренергических синапсов, составляют вещества, воздействующие непосредственно на постсинаптическую мембрану. Здесь можно выделить: ингибиторы катехол-*о*-метилтрансферазы, аллостерические регуляторы активности адренергических рецепторов, активаторы (адреномиметики) и блокаторы (адренолитики) адренорецепторов, активаторы и блокаторы дофаминовых рецепторов.

**Ингибиторы катехол-*о*-метилтрансферазы.** Катехол-*о*-метилтрансфераза (КФ 2.1.1.1.), или КОМТ, содержится в растворимой фракции гомогенатов тканей печени, селезенки, сердца, мозга и других органов. Фермент катализирует 3-*О*-метилирование КА, но не монофенольных аминов. Процесс осуществляется за счет метильной группы *S*-аденозилметионина в присутствии  $\text{Mg}^{2+}$ . Активность фермента конкурентно подавляется пирогаллолом, галловой кислотой и ее эфирами, 8-оксихинолином, апоморфином. Наиболее мощными его ингибиторами являются трополоны. Введение ингибиторов КОМТ животным существенно усиливает как действие катехоламинов, так и эффекты, обусловленные раздражением симпатических нервов, поскольку, препятствуя разрушению КА, повышает их содержание в органах и тканях.

**Аллостерические регуляторы функциональной активности адренорецепторов.** Открытие феномена тканевого захвата позволило понять механизм давно известного адренопотенцирующего действия кокаина (А. Frölich, O. Loewi, 1910) на основе представлений о кокаине как ингибиторе системы захвата-1. Аналогичный механизм лежит в основе адреносенсибилизирующего действия имипрамина и других трициклических антидепрессантов, обнаруженного Sigg et al. (1963). Последние расценивают этот эффект в качестве нейрхимической основы антидепрессивного действия имипрамина и родственных ему веществ.

Формула



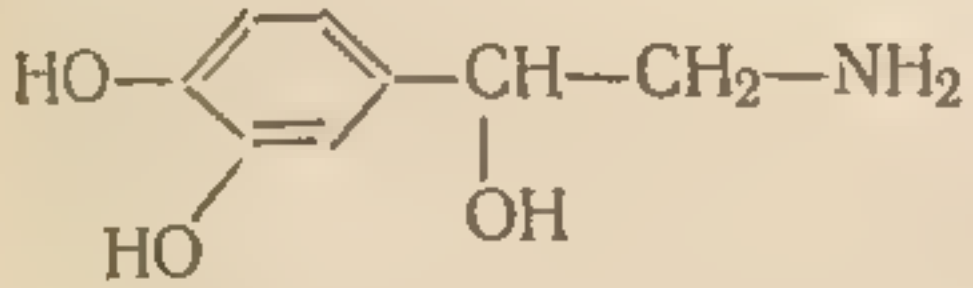
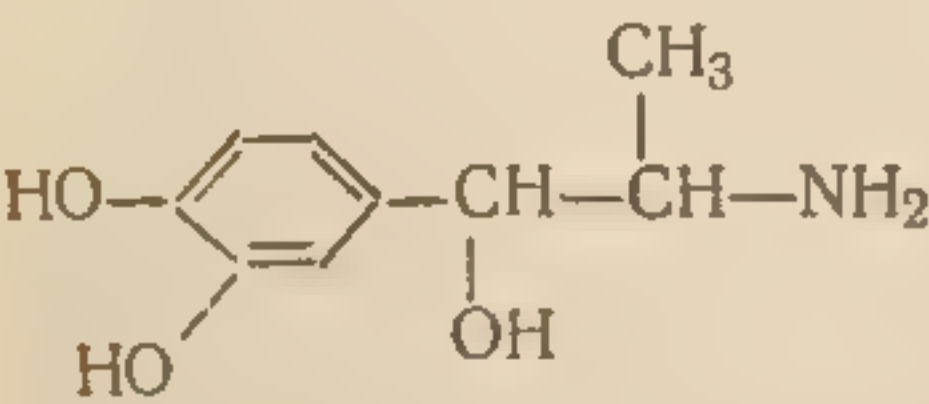
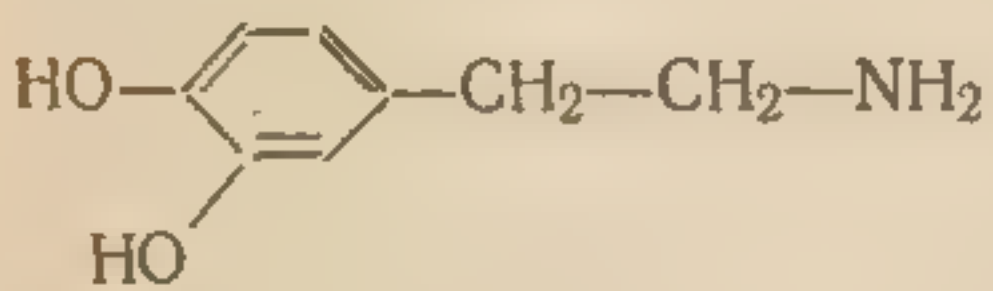
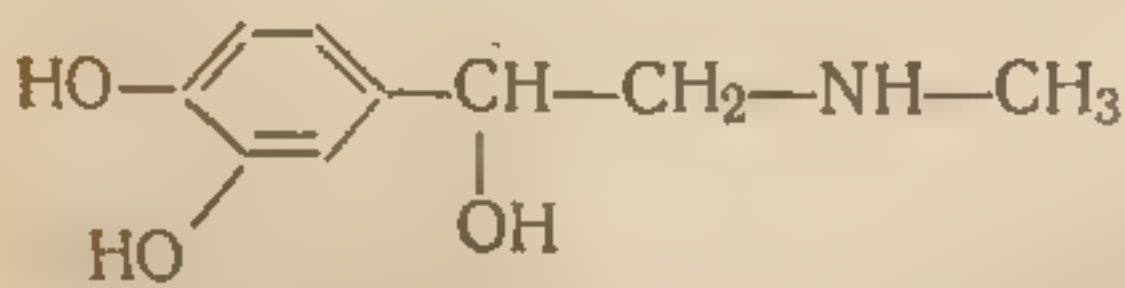
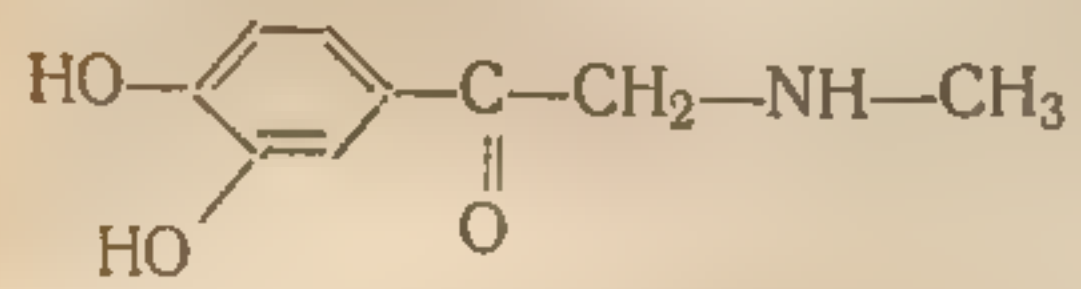
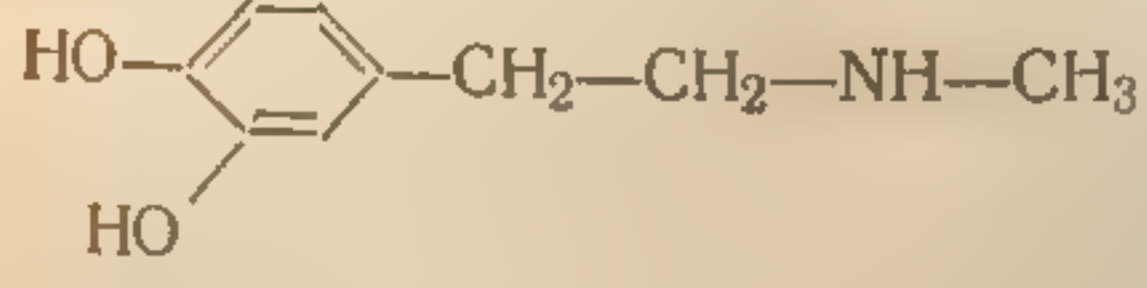
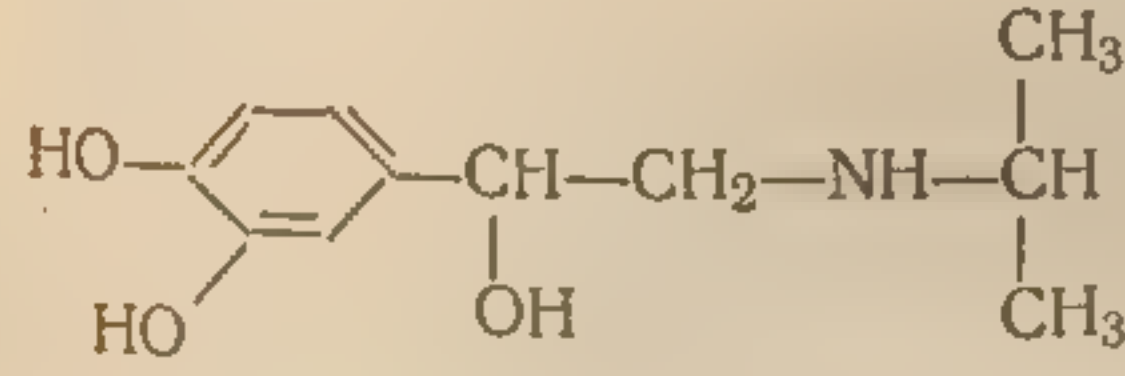
\* Химическая формула, название и название отмечено значком

также на досимпатизирующий эффект, установленный Sigg et al. (1963). Кроме того, установлено, что влияние ДА на односторонний захват ДА незначительно.



Блокада захвата-1 имеет, вероятно, значение в механизме адренопотенцирующего влияния кокаина и трициклических антидепрессантов, но не решающее, ибо эти вещества потенцируют влияние НА на десимпатизированные гладкомышечные органы, а

Таблица 14

| Формула  | Химическое название   | Тривиальное название и синонимы                       |
|--|---|---|
|     | <i>L</i> -(или <i>DL</i> )-1-(3,4-диоксифенил)-2-аминоэтанол      | Норадреналин (норэпинефрин, артеренол, левартеренол*) |
|   | 1-(3,4-диоксифенил)-2-аминопропан-1-ол                            | $\alpha$ -Метилнорадреналин (корбазил, карбадрин*)    |
|   | 1-(3,4-диоксифенил)-2-аминоэтан                                   | Дофамин   |
|  | <i>L</i> -(или <i>DL</i> )-1-(3,4-диоксифенил)-2-метиламиноэтанол | Адреналин (эпинефрин*, гипернефрин)                   |
|  | 4-(метиламиноацето)-пирокатехин                                   | Адреналон* (кефрин)                                   |
|  | 1-(3,4-диоксифенил)-2-метиламиноэтан                              | Эпинин (дезоксиадреналин)                             |
|  | <i>DL</i> -1-(3,4-диоксифенил)-2-изопропиламиноэтанол             | Изадрин (изопропилнорадреналин, изопреналин*)         |

\* Химическая формула, название и синонимы приведены по Negwer. Международное название отмечено значком\*.

также на десимпатизированные органы в условиях одновременного выключения системы захвата-2 дезоксикортикостероном. Кроме того, установлено, что дезипрамин существенно усиливает влияние ДА на одиночные нейроны мозга крыс, хотя его влияние на захват ДА незначительно ■ отличие от влияния на захват НА.



Эти факты показывают, что захват аминов не играет большой роли в потенцирующих эффектах кокаина и трициклических антидепрессантов, и подтверждают ранее высказанное предположение (И. В. Комиссаров, 1966) о возможности действия этих веществ в качестве аллостерических регуляторов функционального состояния адренорецепторов, способных повышать сродство последних к катехоламинам. Помимо приведенных фактов такая точка зрения подтверждается и опытах по изучению количественных зависимостей и адреносенсибилизирующих эффектах кокаина и трициклических антидепрессантов. Несомненно существование веществ, аллостерически понижающих сродство адренорецепторов к катехоламинам.

**Адреномиметики.** Вызываемые адреномиметиками (табл. 14) эффекты являются прямым следствием взаимодействия их с активными центрами адренорецепторов и активации последних. В табл. 14 приведены важнейшие пирокатехинамины (катехоламины). Качественно эффекты этих веществ однотипны, однако их относительная активность при влиянии на функцию разных клеток существенно различается (табл. 15).

**Адренолитики.** Адренолитические средства блокируют адренорецепторы, лишая эффекторные клетки чувствительности к норадреналину и другим катехоламинам. Они устраняют эффекты как симпатомиметиков, так и раздражения симпатических нервов. Однако ни одно адренолитическое вещество не ингибирует полностью всех эффектов, свойственных адреналину, но только некоторые из них. С этой точки зрения среди адренолитиков можно выделить вещества, подавляющие те эффекты адреналина, которые качественно совпадают с эффектами норадреналина ( $\alpha$ -адренолитики), и вещества, устраняющие влияние адреналина, общее с эффектами изадрина ( $\beta$ -адренолитики).

Альфа-адренолитики (табл. 16) устраняют вазоконстрикцию, вызываемую КА или раздражением симпатических нервов, а также сокращение гладких мышц семенных пузырьков, семявыносящих протоков, селезенки, радиальной мышцы радужки, пиломоторов, матки кроликов, человека или беременных кошек. Возбуждающего влияния адреналина на сердце теплокровных животных  $\alpha$ -адренолитики не изменяют. Они не оказывают действия на гладкие мышцы, тонус которых адреналином понижается: трахеи и бронхов, сосудов, матки крыс или девственной матки кошки. Однако  $\alpha$ -адренолитики частично противодействуют влиянию адреналина и НА на гладкие мышцы желудочно-кишечного тракта. Дигидроэрготамин и фентоламин устраняют вызываемую адреналином гипергликемию, но не лактацемию, противодействуют гликогенолитическому влиянию адреналина в печени. Другие  $\alpha$ -адренолитики (дибенамин, аминазин, пиридоксифен) таким действием не обладают. Липолитическое действие КА и вызываемое ими повышение уровня свободных жирных кислот в крови некоторыми  $\alpha$ -адренолитиками (фентоламин, дибенамин) частично уменьшаются.



Таблица 15

| Эффект   | Порядок активности            |
|--|-------------------------------|
| Усиление гликогенолиза в печени  | $A_{др} \gg HA \geq IZA$      |
| Гипергликемия  | »                             |
| Усиление гликогенолиза в мышцах  | $IZA > A_{др} > HA$           |
| Лактацидемия   | »                             |
| Усиление липолиза в жировых клетках  | $IZA > HA > A_{др} > DA$      |
| Стимуляция функции сердца (млекопитающих):                                     |                               |
| (+)-инотропное действие  | $IZA > A_{др} > HA > DA$      |
| (+)-хронотропное действие  | »                             |
| Сокращение гладких мышц:   |                               |
| аорты (кролика)  | $HA = A_{др} \gg IZA$         |
| артерий  | $A_{др} > HA > DA \gg (IZA)$  |
| 3-го века (кошки)  | $A_{др} > HA \gg IZA$         |
| радужки  | $A_{др} > HA \gg IZA$         |
| селезенки  | »                             |
| <i>m. retractor penis</i>  | »                             |
| семенных пузырьков (крысы)   | »                             |
| семявыносящего протока (крыс)  | $A_{др} \geq HA > DA \gg IZA$ |
| матки (кроликов)   | $A_{др} > HA \gg IZA$         |
| Артериальное давление (свинки):  |                               |
| повышение  | $A_{др} > HA \gg DA$          |
| понижение  | $IZA > DA > A_{др} \gg (HA)$  |
| Расслабление гладких мышц:   |                               |
| сосудов  | $IZA \gg A_{др} > (HA)$       |
| бронхов, трахеи (свинок)   | $IZA > A_{др} \gg HA$         |
| матки (крыс)   | »                             |
| желудка (крыс)   | $IZA > A_{др} > HA \gg DA$    |
| кишки подвздошной (свинки)   | $IZA > A_{др} > HA$           |
| Усиление сокращений скелетных мышц (диафрагма крыс)                            | $IZA > A_{др} > HA$           |
| Устранение утомления скелетных мышц (седалищный нерв — икроножная мышца кошки) | $A_{др} > HA \gg (IZA)$       |
| Модуляция холинергического проведения в верхнем шейном ганглии кошки:          |                               |
| угнетение  | $A_{др} > HA > DA \gg (IZA)$  |
| облегчение   | $IZA > A_{др} \gg (HA)$       |
| в заднем брыжеечном ганглии  | $DA > HA$                     |
| угнетение  |                               |

Примечание:  $A_{др}$  — адреналин;  $HA$  — норадреналин;  $DA$  — дофамин;  $IZA$  — изадрин; в скобках — амин вызывает эффект только в определенных условиях эксперимента.



$\beta$ -Адренолитики (табл. 16), не изменяя или усиливая прессорный эффект адреналина, предупреждают депрессорное влияние изадрина и препятствуют понижению артериального давления, вызываемому введением адреналина после фентоламина. Они устраняют вызываемые КА расслабление сосудов, трахеи, бронхов, матки крыс или небеременных кошек. Влияние КА на мышцы желудка и кишечника устраняется лишь частично. Morgan и Perkins (1958) первыми продемонстрировали способность дихлоризопротеренола устранять положительное ино- и хронотропное

Таблица 16

| Химическое название   | Тривиальное название и синонимы   |
|---|-----------------------------------|
| <b><math>\alpha</math>-Адренолитики</b>   |                                   |
| 2-Бензил-2-имидазолин   | Дигидроэрготамин                  |
| 2-[N-( <i>m</i> -оксифенил)-N-( <i>p</i> -толил)-аминометил]-2-имидазолин                 | Бензолин, толазолин *, прискол    |
| N, N-Дибензил- $\beta$ -хлорэтиламин  | Фентоламин *, регитин             |
| N, N-Дибензил- $\beta$ -бромэтиламин  | Дибенамин                         |
| N-( $\beta$ -хлорэтил)-N-(1-метил-2-феноксиметил)-бензиламин                              | Симпатолитин                      |
| Тропиновый эфир $\alpha$ -фенил- $\beta$ -( <i>p</i> -ацетоксифенил) пропионовой кислоты  | Феноксibenзамин *, дибензилин     |
| 2-хлор, 10-( $\beta$ -диметиламинопропил)-фенотназин                                      | Тропафен                          |
| 1-[3-( <i>p</i> -фторбензоил)-пропил]-4-(1-бензиимидазолинон-2)-1,2,3,6-тетрагидропиридин | Аминазин, хлорпромазин *          |
| Фенилизопропилпиридоксамин  | Дроперидол, дегидробензперидол    |
|   | Пиридоксифен                      |
| <b><math>\beta</math>-Адренолитики тотального действия</b>                                |                                   |
| 2-Изопропиламино-1-(3,4-дихлорфенил)-этанол   | Дихлоризопротеренол, DSI          |
| 2-Изопропиламино-1-(4-метилсульфонамид)-этанол  | Соталол, MG-1999                  |
| 2-Изопропиламино-1-(2-нафтил)-этанол  | Пронеталол, неталид               |
| 1-Изопропиламино-3-(1-нафтилокси)-пропан-2-ол   | Анаприлин, пропранолол *, индерал |
| 1-Изопропиламино-3-(4-индолилокси)-пропан-2-ол  | Пиндолол, вискен, LB-46           |
| 1-Изопропиламино-3-( <i>m</i> -толилокси)-пропан-2-ол                                     | Ко-592, ICI-45763                 |
| <b><math>\beta</math>-Адренолитики избирательного действия</b>                            |                                   |
| 4-(2-окси, 3-изопропиламинопропокси)-ацетанилид   | Практолол, теренол, ICI-50172     |
| 1-Изопропиламино-3-( <i>o</i> -аллилфенокси)-пропан-2-ол                                  | Алфепрол, алпренолол, H-56/28     |
| 2-Изопропиламино-1-(3,4-дихлорфенил)-пропан-1-ол  | $\alpha$ -метил-ДСI               |
| 2-Метил-2-изопропиламино-1-(2,5-диметоксифенил)-пропан-1-ол                               | Изопропилметоксамин, IMA          |

\* См. табл. 15.



влияние КА на сердце при отсутствии влияния на эффекты других кардиотонических веществ. Позже адренолитическое влияние на сердце было показано для большинства других  $\beta$ -адреноблокаторов.  $\beta$ -Адренолитики противодействуют гликогенолитическому влиянию адреналина в печени и скелетных мышцах, устраняя гипергликемию и лактацидемию, существенно ослабляют липолитическое действие КА.

Перечисленные эффекты КА устраняются не всеми  $\beta$ -адренолитиками в равной степени эффективно. Так, практолол (табл. 16) уменьшает или устраняет положительное ино- и хронотропное влияние на сердце, но не влияет на гипотензивное действие изадрина. Он не изменяет вызванного изадрином увеличения кровотока в сосудах конечности и лишь в значительных концентрациях противодействует влиянию изадрина на сосуды, бронхи, матку, частично уменьшает метаболические эффекты КА. Напротив, бутоксамин и изопропилметоксамин, мало изменяя влияние КА на сердце, кишечник, желудок, эффективно противодействует их влиянию на гладкие мышцы бронхов, матки, метаболизм жиров и углеводов. Степень влияния алфедрола на сосуды и бронхи на порядок выше влияния его на сердце и кишечник.

#### Дофаминомиметики и дофаминолитики:

##### Дофаминомиметики

Эпинин  
3,4-Диокси, 5-метоксифенилэтиламин  
Апоморфин  
3-Амино-6,7-диокси-1,2,3,4-тетрагидронафталин  
1-(2-пиримидил)-4-пиперонилпиперазин  
(пирибедил, тривастал)

##### Дофаминолитики

Аминазин (хлорпромазин)  
Трифтазин (трифлуоперазин)  
Фторфеназин (флуфеназин)  
Тиоридазин (меллерил)  
Флупентиксол  
Галоперидол  
Спироперидол  
Пимозид

У некоторых животных, например собак и морских свинок, ДА вызывает понижение артериального давления, которое обусловлено расширением почечных и мезентеральных сосудов. Такой природы гипотензия воспроизводится не всеми катехоламинами, а только лишенными алкогольного  $\beta$ -гидроксила, например эпинином. Она воспроизводится также апоморфином. Наличие обоих фенольных гидроксильных групп при отсутствии  $\beta$ -алкогольного гидроксильного — характерная структурная особенность веществ, активирующих тормозные дофаминовые рецепторы нейронов моллюсков или нейронов полосатого тела млекопитающих. Известно, что введение ДА в хвостатое ядро вызывает у животных стереотипные движения, а у мышей и крыс, у которых хвостатое ядро повреждено, — вращательные движения. Помимо ДА эти феномены воспроизводятся введением в хвостатое ядро апоморфина, пирибедила (ЕТ-495), 2-бромэргокриптина (СВ-154), эргокорнина, амантадина. Последний, подобно фенамину, стимулирует дофаминергические механизмы неостриатума, воздействуя не столько на дофаминовые рецепторы, сколько изменяя кругооборот ДА в синапсах. Гипотензивный эффект ДА и нарушения локомоции, вызывае-



мые микроинъекцией ДА в хвостатое ядро, устраняются галоперидолом, другими бутирофенонами, пимозидом, многими фенотиазиновыми нейролептиками.

## ГЛАВА 4

### ГИСТАМИН И АНТИГИСТАМИННЫЕ СРЕДСТВА

История изучения природы и свойства гистамина начинается с 1907 г., когда А. Виндаус и В. Фогт синтезировали этот амин из имидазолпропионовой кислоты. В 1909 г. Г. Дейл и П. Лейндролу извлекли гистамин из спорыньи.

Гистамин относится к наиболее «старым» и, казалось бы, досконально изученным биогенным аминам [первая работа, посвященная изучению его физиологической активности, появилась в 1910 г. (Dale et al., 1910)], однако его роль в живой природе до сих пор еще окончательно не установлена.

Несмотря на то что гистамин прост по своей структуре и широко встречается в живой природе, до сих пор его фармакологическая и биохимическая характеристика далеко не полна, хотя можно считать доказанным, что он не только один из важнейших медиаторов физиологических процессов, но и принимает участие в реализации патохимических и патофизиологических стадий аллергии.

Поскольку роль гистамина в патогенезе многих заболеваний ясна, перед фармакологами была поставлена задача создать средства, способные влиять на проявление того или иного эффекта гистамина.

О том, как решалась эта задача, а также о различных аспектах проблемы гистамина в медико-биологической науке читатель познакомится в настоящей главе.

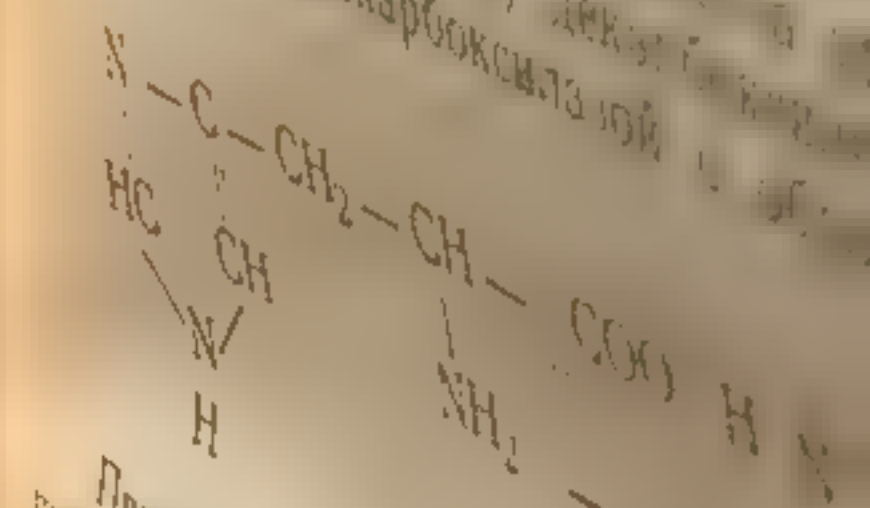
#### § 1. Физико-химические свойства гистамина

Гистамин представляет собой дихлоргидрат β-имидазолилэтиламина ( $C_5H_9N_3$ ). Его молекулярная масса равна 111,1. Гистамин кристаллизуется в виде бесцветных игл;  $t_{пл} = 83-84^\circ C$ ,  $t_{кип} = 209-210^\circ C$ . Он легко растворим в воде и спирте, слабее — в горячем хлороформе, нерастворим в эфире. Водный раствор основания гистамина имеет щелочную реакцию.

Гистамин легко адсорбируется на древесном угле и может быть элюирован оттуда с помощью абсолютного этилового спирта, насыщенного хлористым натрием. Адсорбция гистамина на угле идет тем быстрее, чем больше щелочность среды.

Молекула гистамина имеет три неравноценных атома азота, которые различаются между собой величиной заряда. Эти атомы попеременно могут заряжаться положительно, образуя катионные головки. В молекуле гистамина выделяют две группы с основными свойствами: первая группа — алифатический амин с выраженными основными свойствами; вторая группа образована двумя атомами азота имидазольного кольца, которые функционируют как единая группа за счет резонанса.

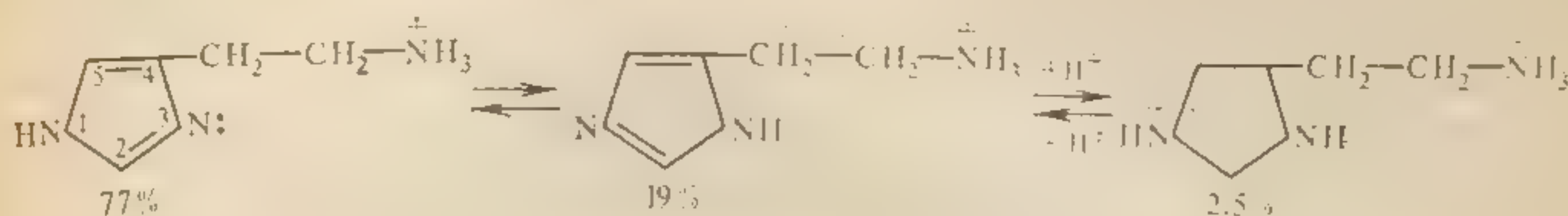
#### § 2. Биосинтез гистамина



При некоторых патологических состояниях в организме человека происходит нарушение обмена гистамина. В частности, при некоторых заболеваниях печени и почек наблюдается повышенное содержание гистамина в крови. Это связано с нарушением функции фермента гистаминазы, который участвует в расщеплении гистамина. В настоящее время ведутся исследования по разработке препаратов, способных восстанавливать активность гистаминазы.



В физиологических условиях молекула гистамина вследствие резонанса может существовать в трех формах (по Ganellin, 1973):



Согласно биохимической номенклатуре, атом азота имидазольного кольца гистамина, прилежащий к боковой цепи, обозначается как *pro*-атом азота ( $N^{\pi}$ ), или «пиридиновый», а противолежащий — как *tel*-атом азота ( $N^{\epsilon}$ ), или «пиррольный».

Конформационный анализ, проведенный Pullman и Port (1974), показал, что боковая цепь молекулы гистамина может находиться в двух стабильных конформациях: *гош*- и *транс*-форме. Хотя *гош*-форма энергетически более выгодна, при гидратации в водных растворах разность энергий двух конформеров нивелируется и обе формы присутствуют примерно в разных соотношениях.

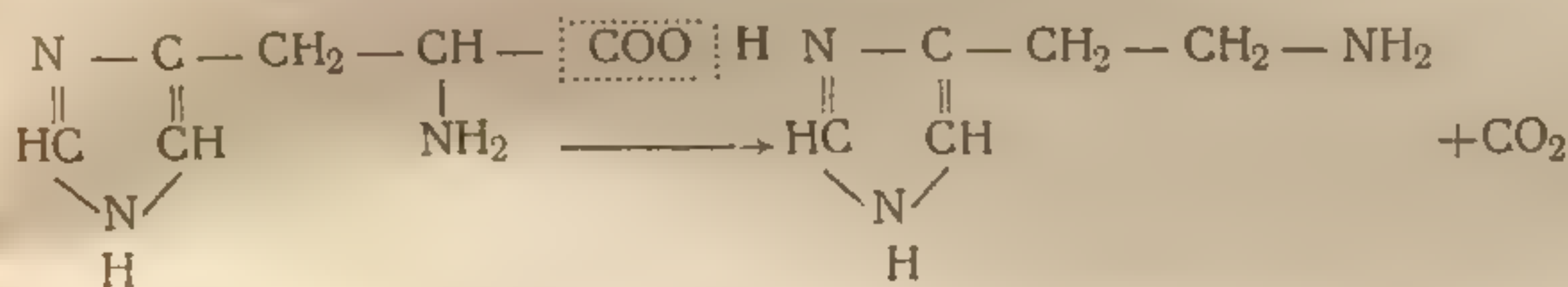
Применение квантовомеханических методов для изучения электронной структуры гистамина (Durant et al., 1975; Weinstein et al., 1976) позволило установить, что все атомы гистамина способны образовывать водородные связи как внутри-, так и межмолекулярные.

Данные о конформации и электронной структуре гистамина необходимы для построения моделей его взаимодействия с рецепторами (механизмы взаимодействия гистамина с его рецепторами будут рассмотрены в соответствующем разделе).

Особенности строения гистамина создают возможность образования его комплексов с другими биологически активными веществами (например, с гепарином).

## § 2. Биосинтез гистамина

Источник образования гистамина в животном организме — незаменимая аминокислота гистидин. Изменения последней в процессе метаболизма осуществляются по двум направлениям: а) гидролитическое дезаминирование при помощи фермента гистидазы (с отщеплением аммиака и образованием уроканиновой кислоты, которая под действием фермента урокиназы распадается до глутаминовой и муравьиной кислот); б) декарбоксилирование гистидина, катализируемое ферментом гистидиндекарбоксилазой с образованием гистамина (амин гистидина):



При некоторых патологических состояниях соотношение между этими двумя путями метаболизма гистидина изменяется. При псориазе, экземе и нейродермитах С. Р. Мардашев (1972) наблюдал значительное (64—9 раз) снижение активности гистидазы. Это снижение пропорционально уменьшению содержания уроканиновой кислоты в коже больных. Поскольку уроканиновая кислота угнетает гистидиндекарбоксилазу, это ведет к более активному декарбоксилированию гистидина с образованием гистамина, способствующего развитию дерматоза.

Многими авторами выделяется специфическая гистидиндекарбоксилаза, которая адаптирована исключительно к *l*-гистидину, и неспецифическая гистидиндекарбоксилаза, которая, помимо гистидина, воздействует на все другие ароматические аминокислоты, а также на ДОФА и 5-окситриптофан. Активность специфического фермента в 2000 раз выше, чем неспецифического.



Гистидиндекарбоксилаза обнаруживается во многих тканях. Особенно высока активность фермента в быстрорастущих эмбриональных тканях, в слизистой оболочке желудка и кишечника, в подбугорной области головного мозга, в коже, печени, почках, щитовидной железе, базофилах, в некоторых тканях опухолей и пролиферирующей ткани ран. В то же время содержание самого гистамина в ткани и активность гистидиндекарбоксилазы не всегда коррелируют между собой, поскольку уровень амина в ткани зависит не только от скорости его синтеза, но и от способности ткани его накапливать или подвергать метаболической деградации.

Кофактором гистидиндекарбоксилазы в большинстве случаев является пиридоксаль-5-фосфат (витамин  $B_6$ ). При недостатке этого витамина у крыс значительно снижается величина синтеза гистамина. Инактивация пиридоксин-5-фосфата при его комплексообразовании с некоторыми производными имидазола, цистамина, цианидами и гидразинами также угнетает биосинтез гистамина. Наиболее сильно ингибировали этот коэнзим гидразид изоникотиновой кислоты, семикарбазид и гидроксилламин. Предполагается, что пиридоксаль-5-фосфат может связываться также с гистамином, в результате чего при избытке образовавшегося амина тормозится его ферментативное декарбоксилирование.

У некоторых видов микроорганизмов гистидиндекарбоксилаза в активном центре содержит не пиридоксальфосфат, а ковалентно связанную кетокислоту. Эта гистидиндекарбоксилаза необычна и в том отношении, что молекула фермента содержит по пять субъединиц из цепей с молекулярной массой 9000 и 28 000 и обладает поворотной симметрией пятого порядка.

В любом случае в процессе декарбоксилирования происходит образование шиффова основания с субстратом (пиридоксальфосфат или кетокислота замещает  $NH_2$ -группу гистидина на группу, которая по электронным свойствам эквивалентна смежной карбонильной группе). Данная реакция практически необратима.

Последовательность стадий декарбоксилирования гистидина завершается присоединением протона в пункте отщепления карбоксила с последующим распадом шиффова основания.

Величина  $K_m$  для реакции декарбоксилирования гистидина обычно превышает уровень этой аминокислоты в тканях, что свидетельствует о возможности увеличения синтеза гистамина при повышении содержания гистидина.

Различные экзогенные и эндогенные факторы, такие, как бактериальные эндотоксины, гормоны, химические вещества, стресс, могут индуцировать гистидиндекарбоксилазу и повышать синтез гистамина. Блокаторы синтеза белка пуромидин и циклогексимид подавляют эти реакции, что указывает на их связь с синтезом нового белка.

По данным Nakanson et al. (1975) при введении крысам гистаминового антагониста буримамида происходит повышение активности гистидиндекарбоксилазы в тканях желудка.

Активность гистидиндекарбоксилазы уменьшается в присутствии адреналина, витаминов  $B_1$  и  $B_2$ , глутатиона, цистеина и АТФ. У морских свинок после подкожного введения им гистидина содержание гистамина в тканях легких в результате действия гистидиндекарбоксилазы увеличивается почти в 2 раза.

Поскольку либераторы гистамина вещество 48/80 и полимиксин В, снижающие концентрацию гистамина в тканях, увеличивали скорость синтеза этого амина вследствие активации гистидиндекарбоксилазы, а при увеличении концентрации амина в тканях после его введения извне наблюдалось торможение системы его биосинтеза, Kahlson, Rosengren (1971) сделали вывод, что в организме существует механизм саморегуляции синтеза гистамина.

Брокрезин и  $\alpha$ -метилгистидин ингибируют специфическую гистидиндекарбоксилазу и не влияют на ложную. Причем  $\alpha$ -метилгистидин не только конкурентно блокирует активность фермента, но при этом и сам подвергается декарбоксилированию и инактивации.

### § 3. Депонирование и высвобождение гистамина

Почти все органы человека и животных содержат гистамин, но количество его сильно варьируется в различных тканях и у разных видов животных: в желудке собак — 66,5 мкг/г, в легких обезьян —



до 100 мкг/г, в коже человека около 30 мкг/г. Довольно высокое содержание гистамина обнаружено в подбугорной области (1,25—10,0 мкг/г), невроцитах гипофиза и эпифиза и периферических нервах спинного мозга. Особенно много гистамина в постганглионарных симпатических волокнах нервов селезенки и блуждающего нерва (до 100 мкг/г). В чувствительных нервах гистамина больше, чем в двигательных.

На основании функциональных и морфологических различий депо гистамина в организме разделяют на два типа: тучноклеточные и нетучноклеточные, или «депо неспецифических тучных клеток» и «специфические тканевые депо». В то время как депо тучных клеток вовлечены во многие неспецифические реакции всего организма (воспаление, иммунные реакции и др.), специфические депо связаны с самой функцией тканей, где гистамин играет медиаторную роль.

Тучные клетки были открыты Эрлихом в 1877 г. и названы им так вследствие наличия в их цитоплазме гранул с веществом, окрашивающимся метакроматически толуидином синим.

Форма и размеры тучных клеток могут быть разнообразны. Чаще всего они имеют округлую или овальную форму размером около 20—30 мк в диаметре, содержат небольшое плотное ядро и зернистую цитоплазму. Подсчитано, что в одном кубическом миллиметре околососудистой ткани присутствует до 8 тысяч тучных клеток.

Цитохимический анализ позволил обнаружить, что гранулы тучных клеток в большом количестве содержат белок (60%), гепарин (30%) и гистамин (10%), а также серотонин (0,3%), АТФ (0,2%), гиалуроновую и хондроитинсерную кислоты, липиды, РНК. В белковой фракции выявлена активность таких ферментов, как кислой и щелочной фосфатазы, АТФазы, гистидиндекарбоксилазы, химотрипсина и липазы.

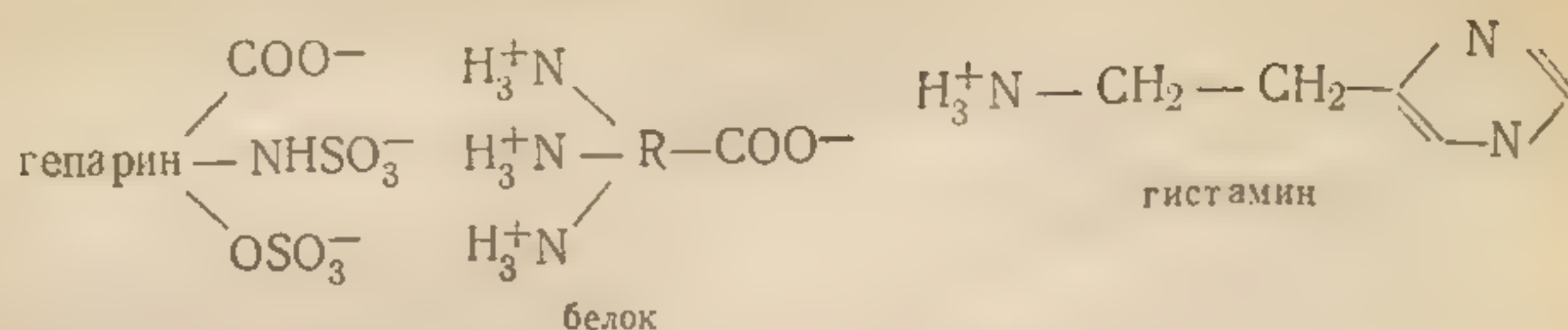
Важно подчеркнуть, что тучные клетки являются источником не только низкомолекулярных медиаторов аллергии и воспаления, но и трипсиноподобных ферментов (эстераз), способных гидролизовать эфиры основных аминокислот и высвобождаемых адреналином или веществом 48/80.

Согласно электронно-микроскопическим исследованиям, в тучных клетках имеется, по крайней мере, два типа гранул, поэтому вполне возможно, что гистамин и эстеразы локализованы в различных гранулах. Поскольку адреналин не вызывает выхода гистамина из тучных клеток, но активирует эстеразы, Rotchild (1980) считает, что высвобождение гистамина и активация эстераз представляет собой два независимых события.

Тучные клетки могут быть изолированы в культуре ткани, что позволяет подробно наблюдать и изучать процессы депонирования и высвобождения в них биологически активных веществ. Большой вклад в изучение этих процессов внесли шведские исследователи во главе с Берье Увнес (1970). Им обнаружено, что гистамин в гранулах связан с гепарин-белковым комплексом, который действует



как ионсвязывающая система:



Этот комплекс способен к захвату не только молекул гистамина и серотонина, образующихся внутри тучной клетки, но и многих неорганических катионов ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) и биологически активных веществ из окружающей среды.

Количество биологически активных веществ в тучных клетках может возрастать в десятки и сотни раз по сравнению с окружающей средой.

Тучные клетки возникают в соединительной ткани прежде всего за счет трансформации больших и средних лимфоцитов, макрофагов, фибробластоподобных клеток. Они расположены по ходу кровеносных сосудов и в серозных оболочках различных органов.

В цельной крови основная часть гистамина сосредоточена в базофильных лейкоцитах, которые по своим свойствам к захвату и высвобождению этого амина весьма близки к тучным клеткам (гранулы их окрашиваются также метакроматически, как и гранулы тучных клеток). Способностью захватывать и депонировать гистамин обладают и тромбоциты, в особенности при повышении его уровня в плазме. В последней концентрация гистамина в норме у человека не превышает 1 нг/мл. По данным Ludis (1979), гистамин образует связь с  $\alpha$ -, а не  $\gamma$ -глобулинами плазмы человека, как считалось ранее.

Имеются также данные, что гистамин может связываться сывороточным альбумином и пептидом Н в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , образуя комплекс гистамин —  $\text{Ca}^{2+}$  — белок. Предполагается, что в связывании гистамина принимают участие карбоксильные группы белков.

В желудочно-кишечном тракте, главным образом в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки, где синтезируется большая часть всего гистамина организма, примерно 80% всех его запасов локализованы в специфических клеточных депо и только 20% в тучных клетках обычного типа. Специфическими депо гистамина в желудке человека, собаки и свиньи являются «атипические тучные клетки». У крыс и мышей они представляют систему энтерохромафинных клеток, локализованных в непосредственной близости от париетальных клеток секреторных желез и образуют вместе с ними единый функциональный аппарат секреции.

Кроме слизистой оболочки желудка к специфическим тканевым депо относят клетки, содержащие гистамин в поджелудочной железе и в нервной системе.

В ЦНС гистамин непосредственно содержится в нейронах и главным образом во фракции синапсом и микросом.



Гематоэнцефалический барьер почти не проницаем для гистамина, поэтому содержащийся в тканях мозга гистамин является результатом эндогенного синтеза в клетках мозга (И. Л. Вайсфельд, 1976). Следует отметить, что на проникновение гистамина через гематоэнцефалический барьер и, следовательно, на его концентрацию в головном мозгу влияет активность фермента, метилирующего гистамин. Введение мышам, крысам или морским свинкам ингибиторов метилирования гистамина (аминогуанидина, метилгистамина, амодиахинона) приводит к значительному увеличению накопления  $^{14}\text{C}$ -гистамина в головном мозгу после его подкожного введения в дозе 1 мкК. Этот факт представляет большой интерес. Хотя еще нет сведений о точной локализации действия ингибиторов метилирования гистамина в головном мозгу, он позволяет предположить существование в гематоэнцефалическом барьере системы, регулирующей скорость проникновения гистамина из крови в ЦНС.

Находясь в связанном состоянии в тучных клетках, гистамин не активен. В физиологических условиях небольшие количества гистамина постоянно освобождаются в тканях и органах, участвуя в нейрогуморальной регуляции капиллярного кровообращения, проницаемости стенок капилляров и клеточных мембран, в поддержании тонуса органов с гладкой мускулатурой.

Однако в условиях действия многих факторов (высокая и низкая температура, боевые отравляющие вещества типа фосгена, болевые раздражения, гипоксия, проникающая радиация, гипотонический «шок», микробные токсины, реакция антиген — антитело) имеет место освобождение большого количества гистамина, и он превращается в фактор патологического значения.

Как правило, либераторы гистамина обладают свойствами оснований. Считается, что для активации тучных клеток должно произойти взаимодействие основных группировок молекул либератора с комплементарными им отрицательно заряженными группами поверхности клеток.

Пептиды, являющиеся производными АКТГ и мелиттина, обладают выраженной способностью стимулировать выход гистамина из тучных клеток крыс в случае наличия в их структуре четырех основных аминокислотных остатков (лизина и аргинина). Присутствие С-концевой карбоксильной группы снижало их гистаминвысвободительную активность, а полипептиды с кислотными аминокислотными остатками были не активны.

Высвобождение амина из тучных клеток при взаимодействии антигена с Ig E-антителом на их поверхности происходит только в присутствии ионов кальция и сопровождается входом кальция в клетки. Секреция гистамина из срезов подбугорной области головного мозга также осуществляется по Са-зависимому механизму.

Эксперименты с липидорастворимым двухвалентным ионофором А 23187, специфически транспортирующим  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  через биомембраны, подтвердили триггерную роль кальция в высвобождении гистамина. В присутствии  $\text{Ca}^{2+}$  данный ионофор индуциро-



вал высвобождение гистамина из лейкоцитов человека и тучных клеток крыс.

Сравнение действия ионофора и антигена на высвобождение гистамина позволило получить новую информацию о механизме этого процесса.

Иммунологически индуцируемое высвобождение амина ингибируется симпатомиметиками и ингибиторами фосфодиэстераз, которые повышают уровень циклического АМФ. Дибутирил циклический АМФ и теofilлин ингибируют высвобождение гистамина из тучных клеток морской свинки, вызываемое как ионофором А 23187, так и реакцией антиген — антитело. Адреналин, изопреналин и противоаллергическое вещество динатрия хромогликат были эффективны только в случае анафилактической системы. В то же время циклический АМФ и его производные, а также динатрия хромогликат не влияли на высвобождение гистамина из лейкоцитов человека и тучных клеток крыс, индуцируемое ионофором.

Таким образом, результаты этих исследований свидетельствуют о модулирующей роли циклического АМФ в процессе высвобождения гистамина. Считается, что циклический АМФ может как ограничивать проникновение кальция в клетки (это доказано для тучных клеток крыс), так и дополнительно действовать на какую-то более позднюю стадию высвобождения гистамина (это наблюдалось в тучных клетках морских свинок).

Вместе с тем следует отметить, что роль циклического АМФ не универсальна для всех нецитотоксических либераторов гистамина; так вещество 48/80 высвобождает гистамин без участия циклического АМФ. По данным электронно-микроскопических исследований процесс выхода гистамина из тучных клеток имеет две фазы. В первую фазу гранулы, содержащие гистамин, перемещаются к периферии тучной клетки и входят в контакт с ее внутренней мембраной, образуя фокусы слияния (вполне возможно, что для этого слияния необходимы ионы кальция, как это имеет место в случае многих процессов секреции медиаторов). Во второй фазе гистамин выходит во внеклеточную среду. Многие гранулы клетки во время этого процесса выталкивают свое содержимое через «дефект» клеточной мембраны и теряют оболочку.

Либераторы, или «освободители» («высвободители»), гистамина можно классифицировать следующим образом [по Патону (1958)]: 1) вещества, сенсibilизирующие организм (антигены и вещества, образующие с белками тканей и органов антигены); 2) вещества, повреждающие структуру тканей (яды змей, бактериальные токсины); 3) протеолитические ферменты (трипсин); 4) поверхностно-активные вещества (соли желчных кислот); 5) высокомолекулярные вещества (яичный белок, декстран, поливинилпирролидон, лошадиная сыворотка, «анафилатоксин»); 6) специальные освободители гистамина (вещество 48/80); 7) монооснования (алкиламинны).

Альперн (1973) делит все гистаминвысвобождающие вещества на две группы: 1) низкомолекулярные вещества щелочной природы

§ 4. Пути инактивации гистамина  
Вновь синтезированный гистамин может подвергаться инактивации путем разрушения, образующегося в крови. Пути метаболизма гистамина



(моноамины, диамины, замещенные ароматические амины, аммиак, d-тубокурарин, морфин); 2) высокомолекулярные вещества — декстран (у крыс), поливинилпирролидон (у собак), полимиксин В, протеолитические ферменты, яды змей, бактериальные токсины, вещество 48/80, комплекс антиген-антитело.

По механизму действия освободители гистамина разделяют на избирательные (нецитотоксические) и неизбирательные (цитотоксические).

Вещества первой группы (вещество 48/80, комплекс антиген — антитело, некоторые полипептиды с основными свойствами) вызывают высвобождение гистамина без разрушения тучных клеток. Об этом свидетельствует сохранение целостности мембран тучных клеток и отсутствие выхода цитоплазматических включений и ионов  $K^+$  из них при высвобождении гистамина, вызываемого специфическими антигенами.

Высвобождение гистамина из тучных клеток крыс под воздействием вещества 48/80 и при анафилаксии представляет собой ферментативный энергозависимый процесс. При этом расходуется до 20% всего количества АТФ в тучных клетках. Однако пути использования АТФ в этом процессе остаются неизученными.

Цитотоксические основные вещества, такие, как дециламин и антагонисты гистамина, вызывают лизис тучных клеток посредством неферментативного механизма. Однако действие вещества 48/80 и антигистаминных средств хлорциклизина и дифенилгидрамина на тучные клетки крыс блокируется производными фенотиамина (толуидиновым синим, метиленовым синим и тионином), которые являются акцепторами атомов водорода и, следовательно, ингибируют образование АТФ. Поэтому авторы делают вывод, что ферментативный механизм также играет определенную роль в реализации действия антигистаминных средств на тучные клетки.

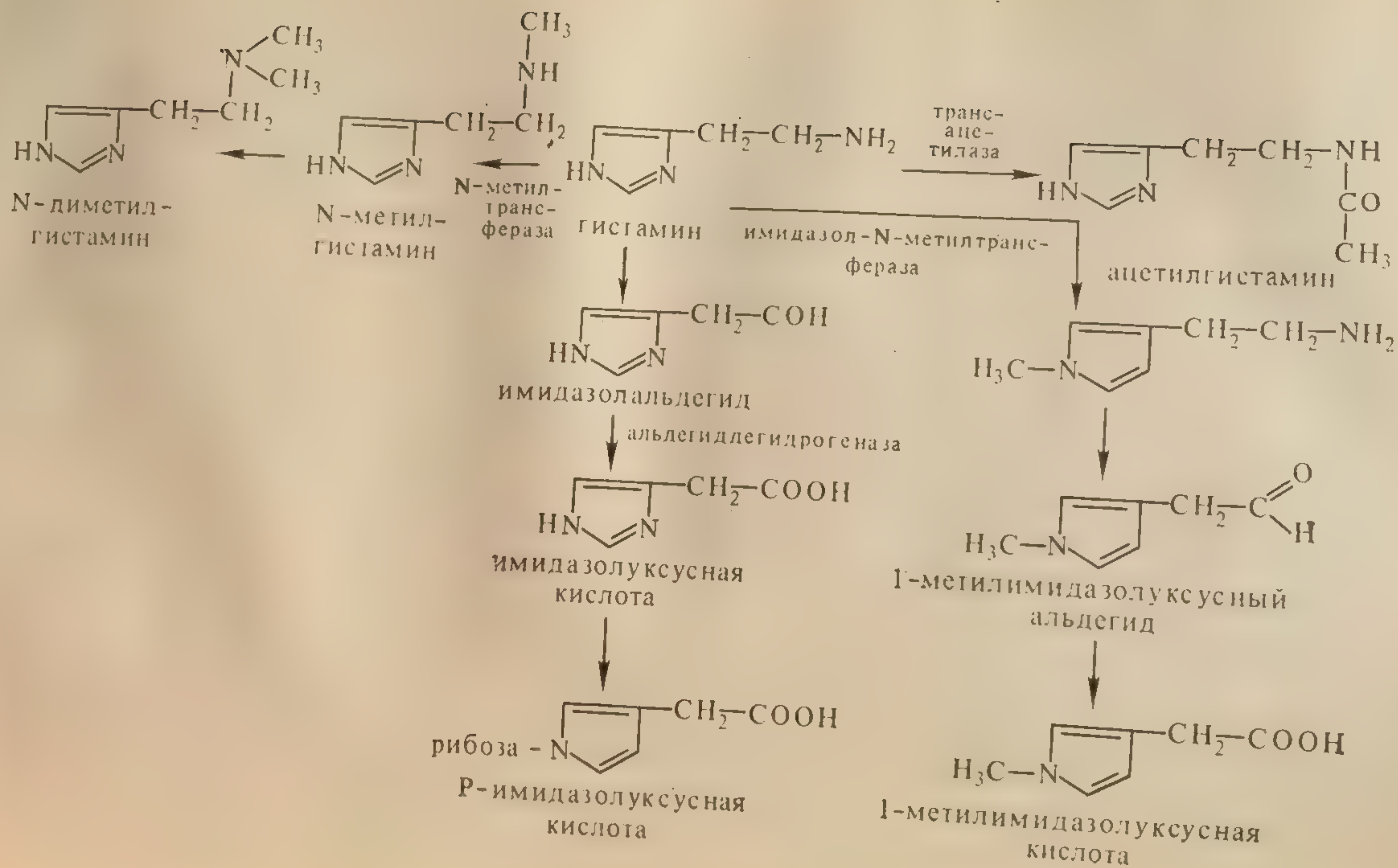
Либераторы гистамина могут оказывать свой эффект также посредством повышения проницаемости плазматической мембраны тучных клеток. При этом внеклеточные катионы (главным образом ионы  $Na^+$ ) проникают внутрь клеток и вытесняют гистамин из его связи с гепаринбелковым комплексом. Важно отметить, что каким бы способом (цитотоксическим или нецитотоксическим) не достигался контакт внеклеточных катионов с гранулярным матриксом тучных клеток, снятие гистамина с этого матрикса осуществляется по катионообменному механизму.

#### § 4. Пути инактивации гистамина в организме

Вновь синтезированный или высвобожденный из депо гистамин может подвергаться инактивации, которая заключается в ферментативном разрушении, обратном депонировании в тканях или связывании с белками крови.

Пути метаболизма гистамина в организме следующие:





Основными ферментами, участвующими в превращении гистамина, являются: транс-ацетилаза, N-метилтрансфераза, имидазол-N-метилтрансфераза, альдегиддегидрогеназа, ацетилгистамин, 1-метилимидазолуксусный альдегид, 1-метилимидазолуксусная кислота, Р-имидазолуксусная кислота, имидазолальдегид, имидазолуксусная кислота, N-метил-гистамин, N-диметил-гистамин, гистамин.

Второй основной фермент, участвующий в превращении гистамина, это N-метилтрансфераза. Она превращает гистамин в N-метилгистамин. Этот процесс происходит в печени и в некоторых тканях кишечника.

Третий фермент, участвующий в превращении гистамина, это транс-ацетилаза. Она превращает N-метилгистамин в N-диметилгистамин. Этот процесс происходит в печени и в некоторых тканях кишечника.

Четвертый фермент, участвующий в превращении гистамина, это имидазол-N-метилтрансфераза. Она превращает гистамин в имидазолальдегид. Этот процесс происходит в печени и в некоторых тканях кишечника.

Пятый фермент, участвующий в превращении гистамина, это альдегиддегидрогеназа. Она превращает имидазолальдегид в имидазолуксусную кислоту. Этот процесс происходит в печени и в некоторых тканях кишечника.

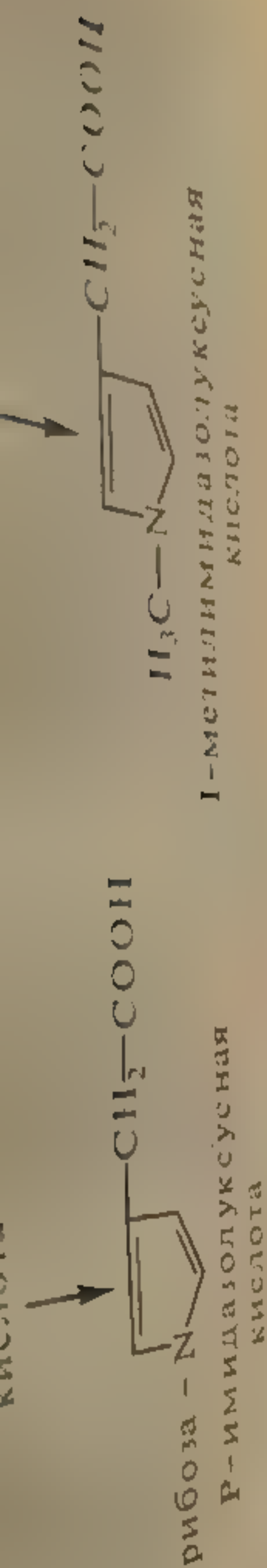
Шестой фермент, участвующий в превращении гистамина, это Р-имидазолуксусная кислота. Она превращает имидазолуксусную кислоту в Р-имидазолуксусную кислоту. Этот процесс происходит в печени и в некоторых тканях кишечника.

Седьмой фермент, участвующий в превращении гистамина, это ацетилгистамин. Она превращает гистамин в ацетилгистамин. Этот процесс происходит в печени и в некоторых тканях кишечника.

Восьмой фермент, участвующий в превращении гистамина, это 1-метилимидазолуксусный альдегид. Она превращает ацетилгистамин в 1-метилимидазолуксусный альдегид. Этот процесс происходит в печени и в некоторых тканях кишечника.

Девятый фермент, участвующий в превращении гистамина, это 1-метилимидазолуксусная кислота. Она превращает 1-метилимидазолуксусный альдегид в 1-метилимидазолуксусную кислоту. Этот процесс происходит в печени и в некоторых тканях кишечника.





Основными реакциями ферментативного превращения гистамина являются окислительное дезаминирование и метилирование.

Впервые фермент, расщепляющий гистамин, был открыт в 1915 г. Eustis в печени сарыча. Фермент ткани почек и слизистой оболочки желудка животных, инактивирующий гистамин, Best (1929) назвал гистаминазой. Позднее в тканях животных была обнаружена диаминооксидаза, окисляющая диамины. Изучение биохимических свойств диаминооксидазы и гистаминазы показало идентичность этих ферментов. Оптимальное значение pH для гистаминазы при 37° С от 6,8 до 7,6. Активные группы фермента — пиридоксаль-5-фосфат и двухвалентная медь, ковалентно связаны между собой и белком. Для действия гистаминазы необходимо присутствие молекулярного O<sub>2</sub>. Тиамин и гуанидин оказывают подавляющее действие на активность гистаминазы. Действие фермента полностью инактивируется цианидом (5·10<sup>-4</sup> М) и семикарбазидом (10<sup>-4</sup> М). Активируют фермент цитрат и фосфат.

У животных содержание гистаминазы в почках и слизистой оболочке кишечника возрастает после подкожных инъекций гистамина. Активность гистаминазы в крови может резко повышаться при токсикозах беременности, часто ее определяют с целью диагностики беременности.

Реакция окислительного дезаминирования гистамина приводит к образованию альдегида, который быстро окисляется в имидазолуксусную кислоту под влиянием альдегиддегидрогеназы. Имидазолуксусная кислота выводится с мочой в неизмененном виде или в виде рибозида имидазолуксусной кислоты.

Второй основной путь метаболизма гистамина заключается в метилировании гетероцикла гистамина с помощью фермента гистамин-N-метилтрансферазы. У млекопитающих этот фермент присутствует в нервной ткани и в большинстве органов. K<sub>m</sub> метилирования гистамина при участии N-метилтрансферазы головного мозга морской свинки равна 4,3·10<sup>-5</sup> М. Данный фермент по отношению к норадреналину, серотонину и бетазолу был не активен, что указывает на его высокую специфичность. Выявлено, что эта ферментативная реакция идет по так называемому пинг-понговому механизму (в процессе реакции образуется метилированный фермент). Метилгистамин был конкурентным ингибитором S-аденозилметионина и неконкурентным ингибитором гистамина. Ртутные диуретики, противомаларийные средства, антигистаминные препараты, местные анестетики и производные этиламина в концентрации 10<sup>-4</sup> М или ниже являлись конкурентными ингибиторами гистамина. Антигистаминные вещества в зависимости от концентрации субстрата ингибируют или потенцируют активность гистамин-N-метилтрансферазы. Однако корреляции между способностью антигистаминных веществ бурирамида и мепирамина блокировать действие гистамина на подвздошную кишку морской свинки и их способностью активировать гистамин-N-метилтрансферазу не выявлено. Поскольку метилирование гистамина, особенно в гипоталамусе, происходит быстро, предполагается, что оно, приводя



к инактивации гистамина, ответственно за прекращение его синаптического действия.

Часть образованного 1,4-метилгистамина выводится непосредственно с мочой, часть окисляется моноаминоксидазой и выводится в виде 1-метилимидазол-2-уксусной кислоты.

Нейтрализация гистамина может осуществляться также путем ацетилирования. При этом образующийся ацетилгистамин выделяется с мочой. Ацетилирование гистамина в основном происходит под влиянием кишечной флоры в кишечнике и не имеет большого значения в тканях теплокровных животных для инактивации этого амина.

К одному из механизмов нейтрализации свободного гистамина в крови относится связывание его с белками плазмы крови здоровых людей и животных.

Это явление было впервые описано под названием гистаминапектической функции сыворотки крови Парро и Лаборда в 1953 г. К диализированной и разведенной в 20 раз сыворотке крови здоровых людей эти авторы добавляли раствор солянокислого гистамина в разведении  $1 \cdot 10^{-6}$ . Активность гистамина, которая исследовалась затем биологическим методом на изолированном отрезке кишки морской свинки, снижалась приблизительно на 30%. В то же время сыворотка больных бронхиальной астмой не обладала такой способностью.

Механизмы гистаминапексии у здоровых людей и причины ее снижения при различных заболеваниях во многом не ясны. Гистаминапексия обусловлена наличием в крови специального «гистаминапектического» глобулина, который находится во фракции  $\gamma$ -псевдоглобулина. Гистамин связывается не с  $\gamma$ -, а с  $\alpha$ -глобулинами сыворотки крови человека. Гистамин связывается с пептидом плазмы, названным Н-пептидом. Вполне возможно, что ему принадлежит важная роль в гистаминапексии. Об этом свидетельствуют такие сопоставления: калий оказывает тормозящее действие на гистаминапексию (если сыворотку больного аллергическим заболеванием путем диализа лишить калия, то гистаминапектический индекс возрастет до 50%), кальций же усиливает гистаминапексию, если она была снижена, с другой стороны, ионы кальция, а также другие двухвалентные катионы  $Mg^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$  и  $Ba^{2+}$  необходимы для комплексообразования гистамина с Н-пептидом, а  $K^+$  и другие щелочные металлы ( $Na^+$  и  $Cs^+$ ) ингибируют это комплексообразование.

Гистаминапектическое действие сыворотки крови находится под регулирующим влиянием передней доли гипофиза и коры надпочечников. Так, например, гипофизэктомия или адреналэктомия крыс ведет к снижению у них гистаминапектического действия сыворотки. Снижение гистаминапектического индекса отмечается и у больных после прекращения длительного лечения кортикостероидными препаратами.

Таким образом, высокой биологической активности гистамина противостоят эффективные механизмы его инактивации, имеющие



важное значение как в регуляции его специфической функциональной активности ■ норме, так и при защите организма от токсического действия гистамина ■ условиях повышения его свободного уровня.

## § 5. Гистаминовые рецепторы

Несмотря на то, что изучение физиологических эффектов гистамина началось ■ 1910 г., только ■ 1937 г. после синтеза антагонистов гистамина появилось понятие «гистаминового рецептора» (Vovet и Staub), при взаимодействии с которым гистамин реализует свою биологическую активность.

Вследствие того что антигистаминный препарат мепирамин не способен блокировать действие гистамина на желудочную секрецию и частоту сокращений сердца, Ash и Schild (1966) выдвинули гипотезу, что существует более чем один класс рецепторов гистамина. Те рецепторы гистамина, которые опосредуют его эффекты, подавляемые мепирамином, представляют собой  $H_1$ -рецепторы, а те рецепторы гистамина, на которые не влияет мепирамин, не являются  $H_1$ -рецепторами.

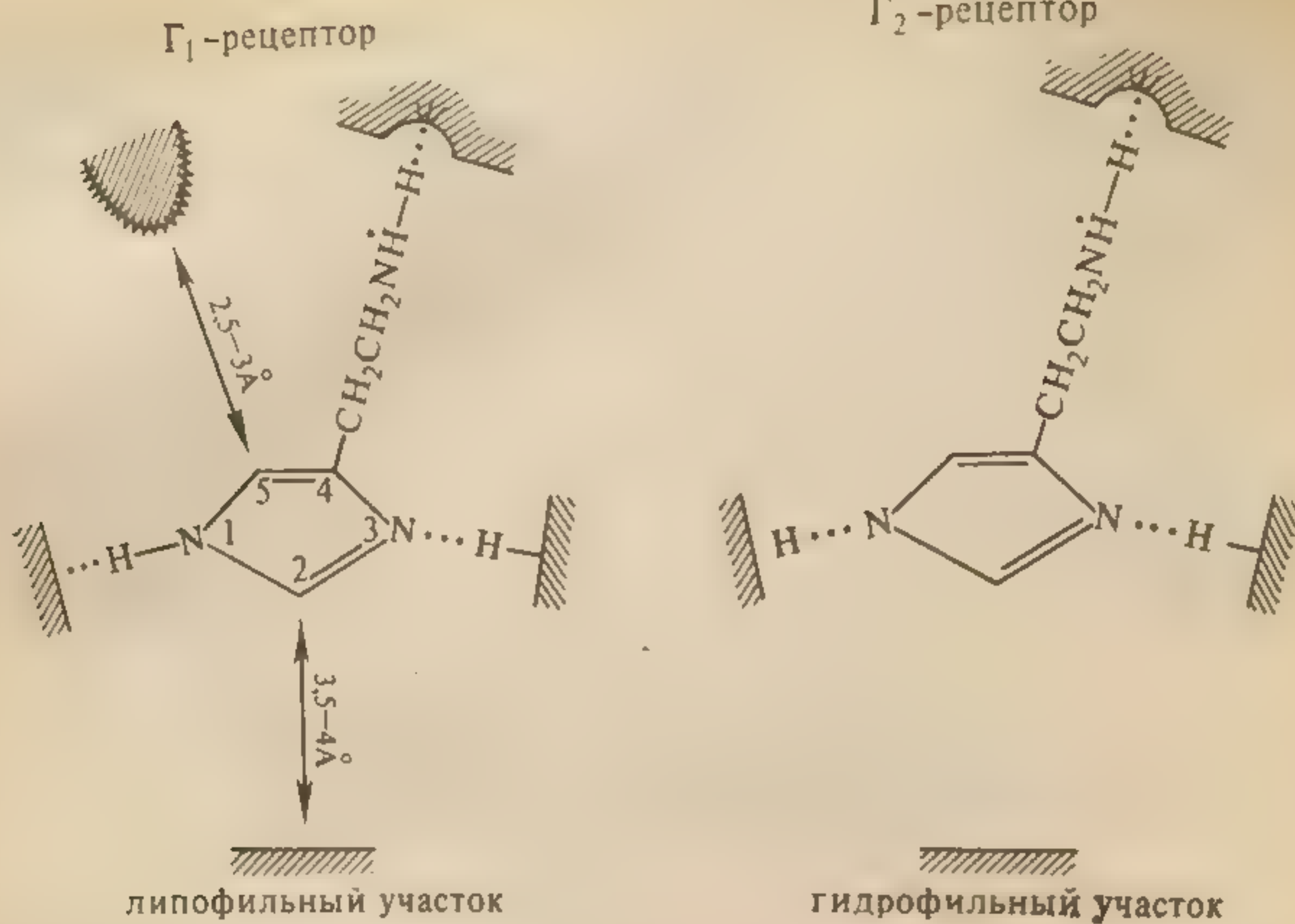
В 1972 г. Black и др. удалось синтезировать антигистаминный препарат буримамид, который мог конкурентно ингибировать секреторный эффект гистамина в желудке, что послужило решающим экспериментальным доказательством существования второго типа гистаминовых рецепторов, названных в отличие от  $H_1$ -  $H_2$ -рецепторами.

Следует отметить, что до сих пор гистаминовые рецепторы классифицируют в основном фармакологически; физико-химическими методами они изучены недостаточно. Вместе с тем синтез и изучение большого числа агонистов и антагонистов гистамина позволило уже сейчас получить, хотя и косвенную, информацию об элементах строения  $H_1$ - и  $H_2$ -рецепторов гистамина.

Несмотря на то, что молекула гистамина может существовать ■ трех формах (см. с. 147), предполагается, что только в первой форме гистамин способен связываться с рецепторами. Поскольку различные заместители при атомах азота приводят к потере у производных гистамина активности по отношению к рецепторам, можно считать, что именно за счет водородных связей гистамин комплексируется с рецепторами.

В то время как для реализации действия молекулы гистамина на  $H_1$ -рецептор достаточно образования одной водородной связи с прилежащим атомом азота гетероцикла, активность аналогов гистамина в отношении  $H_2$ -рецепторов может обеспечиваться лишь при наличии ■ гетероцикле одновременно двух атомов азота, которые одновременно фиксируются двумя водородными связями. Это необходимо для переноса протона из одного активного центра  $H_2$ -рецептора А ■ другой В:





Анализ зависимости действия аналогов гистамина от структуры различных заместителей в циклической части их молекул позволил предложить схему строения рецепторов гистамина. Как Г<sub>1</sub>-, так и Г<sub>2</sub>-рецепторы гистамина имеют катионный центр, образующий водородную связь с аммонийной группой этиламинной цепи. Вещества с липофильным заместителем во втором положении имидазольного кольца — агонисты Г<sub>1</sub>-, но не Г<sub>2</sub>-рецепторов, а вещества с гидрофильным заместителем в этом положении — агонисты Г<sub>2</sub>-, но не Г<sub>1</sub>-рецепторов. В отличие от Г<sub>2</sub>- Г<sub>1</sub>-рецепторы содержат липофильный диполь, который принимает участие в образовании дополнительной связи с пятым углеродным атомом гетероцикла.

Не вызывает сомнения, что знания о взаимодействии гистамина с его рецепторами значительно расширятся, когда будут изучены биохимические свойства самих рецепторных систем. В этой связи представляет интерес работа Cook et al. (1977), в которой исследовано влияние температуры на функцию гистаминовых рецепторов.

В качестве рецепторной системы авторы использовали препарат продолговатой мышцы подвздошной кишки морской свинки, который содержит типичную Г<sub>1</sub>-рецепторную систему при 37°С. Обнаружено, что при уменьшении температуры с 37 до 15°С активность классических антагонистов Г<sub>1</sub>-рецепторов хлорфениламина и трипеленнамина снижается, но появляется способность у Г<sub>2</sub>-антагониста метиамида блокировать действие гистамина, выражающееся в сокращении отрезка подвздошной кишки морской свинки. При 37°С 2-галоидалкиламины, являющиеся необратимыми антагонистами Г<sub>1</sub>-рецепторов, сдвигали кривую зависимости доза — эффект для гистамина и снижали максимальный ответ кишки к действию



гистамина, а при 15°С они не вызывали сдвига этой кривой, но блокировали действие гистамина по неконкурентному типу. Согласно полученным результатам, снижение температуры приводит к заметным изменениям свойств рецепторов гистамина, что сильно сказывается на действии конкурентных и необратимых антагонистов гистамина, но не на активности самого гистамина. Авторы предполагают, что данная рецепторная система содержит по крайней мере один тип связывающих участков, который ответствен за действие антагонистов, но не самого гистамина, и что температурные изменения могут каким-то образом влиять на избирательность некоторых участков рецептора. По всей видимости, изменения свойств рецепторов отражают изменения структуры мембраны, происходящие при изменении температуры, как это наблюдается в случае мембраносвязанных ферментов.

Первой работой, в которой получено доказательство, что  $G_1$ - и  $G_2$ -рецепторы — это различные биомакромолекулы, явилось сообщение Osband, McCaffry (1979). Авторы описали экстракцию и разделение  $G_1$ - и  $G_2$ -рецепторов мембран тимоцитов теленка. С помощью ионообменной хроматографии им удалось отделить  $G_1$ - от  $G_2$ -рецепторов, что указывает на их различные физические свойства. Выявлено, что молекулярная масса  $G_1$ -рецепторов равна 50 000, а  $G_2$ -рецепторов 40 000.

По аналогии с адрено- и холинорецепторами гистаминовые рецепторы становятся менее чувствительными к агонистам при их длительном воздействии (феномен десенситизации).

Подавление гистаминовым антагонистом феноксibenзамином действия гистамина на препарат подвздошной кишки морской свинки уменьшается при снижении чувствительности данного препарата к гистамину. Приведенный результат свидетельствует об изменениях на рецепторном уровне, возможно, о конформационных перестройках рецепторов при уменьшении чувствительности  $G_1$ -рецепторов к гистамину.

В будущем применение новых физико-химических методов должно дополнить пока еще небольшие знания о молекулярных механизмах взаимодействия гистамина и его аналогов с гистаминовыми рецепторами. Не исключено также, что будет открыт еще один или несколько типов гистаминовых рецепторов. Подтверждением последнего предположения может служить работа Schnartz (1979). Изучая гистаминовые рецепторы в головном мозгу, автор пришел к выводу, что проявление седативного действия  $G_1$ -антагонистов, гипотензивного действия клонидина и антидепрессивной активности трициклических антидепрессантов вовлечены гистаминовые рецепторы, отличные от  $G_1$ - и  $G_2$ -рецепторов.



## § 6. Основные аспекты фармакологического действия гистамина

Несмотря на многообразие биологических эффектов гистамина, весь спектр его активности можно свести к следующим аспектам: гистамин наряду с другими медиаторными веществами и гормонами регулирует практически повсеместно тонус гладких мышц, действует как посредник на периепителиальные клетки желудка, выполняет роль синаптического медиатора в нервной системе и, наконец, принимает участие в иммунохимических механизмах. Вместе с тем традиционно принято рассматривать действие гистамина отдельно на ту или иную систему организма.

**Влияние гистамина на сердечно-сосудистую систему.** Установлено, что гистамин и его  $H_1$ - и  $H_2$ -агонисты вызывают падение артериального давления у большинства животных и человека.

При внутрикожном введении гистамина развиваются явления, которые в литературе получили название триады Леви. Вслед за введением гистамина в месте инъекции возникает резко очерченная краснота, вызванная расширением капилляров. Вокруг нее через несколько секунд появляется диффузная краснота в виде пятна из-за расширения артериол вследствие аксон-рефлекса. Наконец, заключительной стадией этой тройной реакции является возникновение через 2 мин вблизи места введения гистамина папулы, вызванной повышением проницаемости капилляров и отеком тканей.

Наряду с расширением капилляров гистамин способствует повышению проницаемости их стенок. Это ведет к выходу белковых фракций плазмы крови из сосудистого русла и накоплению жидкости, богатой белком, в межтканевых пространствах. Гистамин обладает специфической функцией активирования эндотелия капилляров и увеличения его способности к адсорбции инородных веществ, в том числе и каллоидов.

В капиллярах кожи людей выявлены  $H_1$ - и  $H_2$ -рецепторы. Вследствие этого  $H_1$ - или  $H_2$ -антагонисты, применяемые в отдельности, слабее подавляют развитие воспалительной реакции кожи, обусловленной гистамином, чем при их совместном введении.

У цыплят  $H_1$ - и  $H_2$ -рецепторы опосредуют сосудорасширяющее действие гистамина. В то же время у кроликов, морских свинок и лошадей вазомоторный эффект гистамина имеет две фазы. Вначале наступает гипертензия, блокируемая  $H_1$ -антагонистами, а затем развивается гипотензия, подавляемая  $H_2$ -антагонистами. Следовательно, у этих животных сосудосуживающее действие гистамина обусловлено  $H_1$ -рецепторами, а сосудорасширяющее —  $H_2$ -рецепторами.

В большинстве работ, посвященных изучению действия гистамина на сердце, использовались изолированные перфузируемые препараты сердец животных. Установлено, что гистамин обладает положительным хронотропным и инотропным и отрицательным дромотропным эффектами, увеличивает коронарный кровоток непо-



средственно и опосредованно (высвобождение катехоламинов, расширение периферических сосудов, изменения легочного кровообращения).

Выявлено, что положительное хронотропное и инотропное действие гистамина опосредовано  $H_2$ -рецепторами. В то же время гистамин реализует свой отрицательный дромотропный эффект, взаимодействуя с  $H_1$ -рецепторами.

Активация  $H_2$ -, но не  $H_1$ -рецепторов сопровождается повышением уровня циклического АМФ в сердце, который, по-видимому, выполняет роль вторичного медиатора в реализации физиологических эффектов гистамина при его взаимодействии с  $H_2$ -рецепторами.

Таким образом, действие гистамина на сердечно-сосудистую систему опосредуют как  $H_1$ -, так и  $H_2$ -рецепторы. Имеющиеся сведения позволяют считать, что гистамин регулирует функции этой системы как в физиологических, так и в патофизиологических условиях.

**Влияние гистамина на тонус органов с гладкой мускулатурой.** Помимо действия на гладкую мускулатуру стенок сосудов гистамин вызывает повышение тонуса и усиление автоматических движений органов с гладкой мускулатурой (бронхи, пищевод, желудок, кишечник, матка, желчный пузырь, селезенка, мочеточники, мочевой пузырь) у большинства позвоночных. Повышение тонуса гладкой мускулатуры при введении больших доз гистамина может происходить вплоть до ее спазма.

Свойства гистамина вызывать сокращение гладких мышц положено в основу биологического метода определения гистамина на изолированном отрезке кишки морской свинки или матки девственной крольчихи, реагирующих сокращением в опыте *in vitro* на введение гистамина.

**Действие гистамина на бронхи.** Гистамин вызывает сокращение гладких мышц бронхов у человека, морской свинки, кроликов, свиней, телят, лошадей и цыплят посредством взаимодействия с  $H_1$ -рецепторами. В то же время у кошек и овец гистамин расширяет бронхи, у первых, связываясь с  $H_1$ -, а у вторых — с  $H_2$ -рецепторами.

С сильным бронхоспастическим действием гистамина у людей связывают механизм развития ряда патологических состояний в легких, в первую очередь бронхиальной астмы. Высказывается мнение, что астматический приступ обязан своим происхождением быстрому высвобождению большого количества гистамина из легочной ткани. Скорость поступления гистамина при этом настолько велика, что адекватное образование гистаминазы не успевает возникнуть.

Спазм бронхиальной мускулатуры у человека и животных при анафилаксии и бронхиальной астме не может быть полностью устранен антагонистами гистамина, так как из sensibilizированных бронхов помимо гистамина высвобождаются и другие биологически активные вещества типа гепарина, серотонина, медленно реагирующей субстанции.



...это актуально и  
...содержание...  
...Антигенов...  
...секретов...  
...морской свинки...  
...или антигенов...  
...содержании на листе...  
...действие на...

Рис. 19. Взаимосвязь  
с аденилатциклазной  
ной клетк

екторы, может быть  
с венаром

вом которого Г<sub>1</sub>-рецепция секретирует, Випер, Г<sub>1</sub>-рецептор, амин.

Влияние гистамина на цикл сна и бодрствования. Гистамин вызывает побуждающую область. Trivedi et al. (1978) ферменты.

(1976) и в головном мозге — гипоталамическом введении — гипоталамических гормонов и Г-антагонистов и Г-агонистов — вазопрессина Devero et al. (1980). Иммунохимическим методом выявлено наличие пептида тиметидина по всему организму человека, с мембранами связывания



вано, что активация  $G_1$ -рецепторов желудка приводит к ингибированию секреции соляной кислоты.

Антагонисты и агонисты  $G_1$ -рецепторов не влияют на кислотную секрецию изолированного препарата фундальной части желудка морской свинки, но она сильно изменяется при воздействии агонистов или антагонистов  $G_2$ -рецепторов, что свидетельствует о содержании на париетальных клетках только  $G_2$ -рецепторов. По-видимому, действие на желудочную секрецию, опосредуемое через

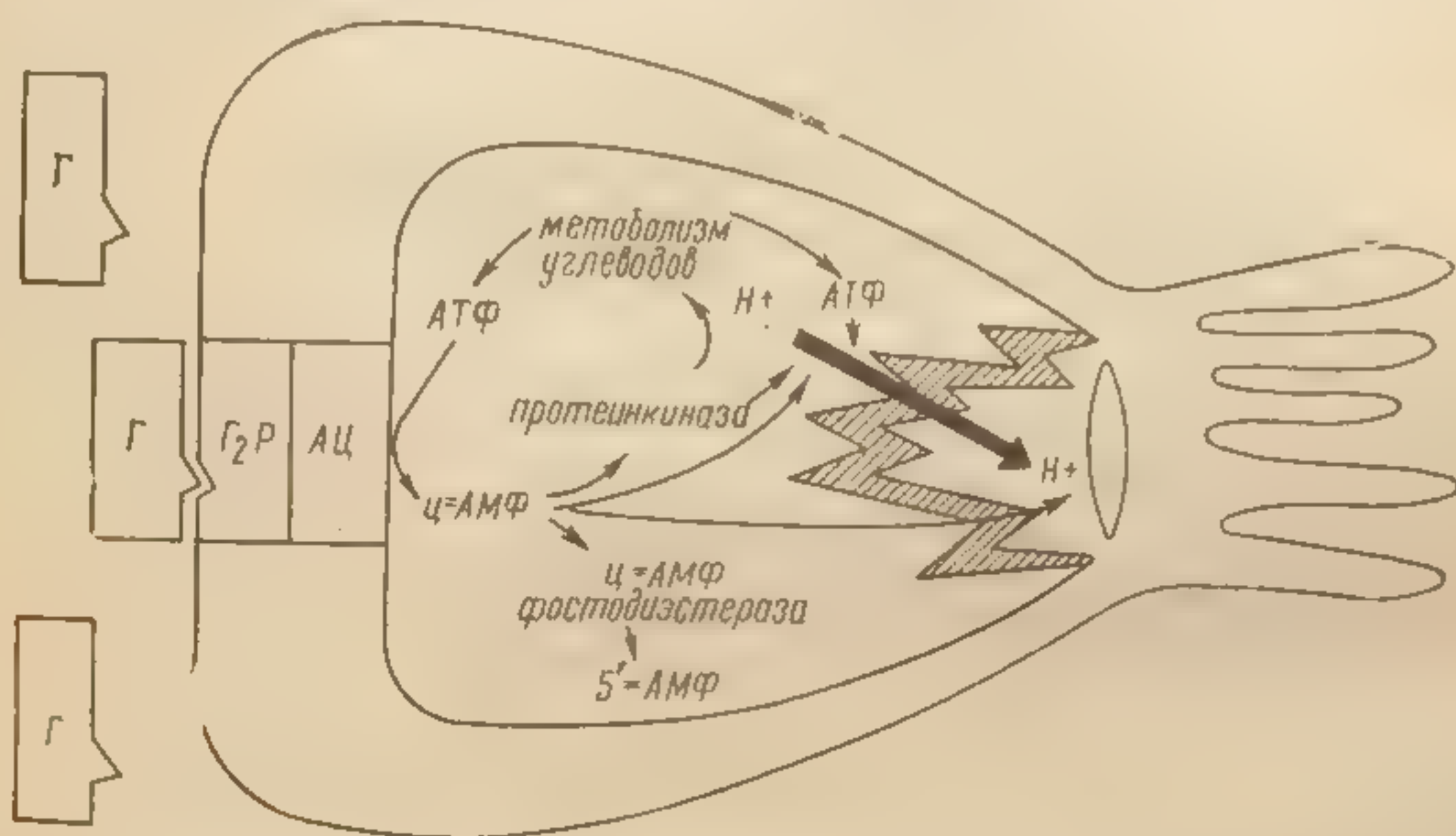


Рис. 19. Взаимосвязь  $G_2$ -рецепторов ( $G_2Р$ ) гистамина ( $Г$ ) с аденилатциклазной системой (АЦ) и функцией париетальной клетки желудка морской свинки

$G_1$ -рецепторы, может быть воспроизведено только на целом желудке с ненарушенным кровоснабжением. Изучая механизм, посредством которого  $G_1$ -рецепторы вовлечены в ингибирование кислотной секреции, Bunge, Parsons (1978) пришли к выводу, что стимуляция  $G_1$ -рецепторов может приводить к высвобождению катехоламинов, которые ингибируют секрецию, взаимодействуя с  $\beta$ -адренорецепторами.

**Влияние гистамина на нервную систему.** По современным представлениям гистамин — нейромедиатор и контролирует в ЦНС цикл сна и бодрствования, потребление воды и ряд других функций. Гистамин вызывает секрецию некоторых релизинг-факторов подбугорной области.

Trivedi et al. (1976) наблюдал при введении гистамина внутрь желудочков головного мозга крыс гипогликемию, а при его периферическом введении — гипергликемию.

$G_1$ -агонисты и  $G_2$ -антагонисты усиливают секрецию гипофизарных гормонов — вазопрессина, АКТГ, пролактина, а  $G_1$ -антагонисты и  $G_2$ -агонисты ослабляют ее.

Devoto et al. (1980) изучили характер связывания  $G_2$ -антагониста циметидина, являющегося высвободителем пролактина у человека, с мембранами передней доли гипофиза крыс. Параметры связывания циметидина с этими мембранами были таковы:



$K_d = 40,3$  нМ, а максимальное число связывающих участков  $1,94$  пмоль/мг белка. Предполагается, что высвобождение пролактина под воздействием циметидина обусловлено непосредственным взаимодействием последнего с  $H_2$ -рецепторами передней доли гипофиза.

При внутрижелудочковом введении или локальной аппликации в определенные отделы ЦНС гистамин индуцирует гипертензию и тахикардию, связываясь с  $H_1$ -рецепторами. Рвота, вызываемая гистамином у собак, по-видимому, опосредована  $H_1$ - и  $H_2$ -рецепторами головного мозга.

$H_1$ - и  $H_2$ -агонисты ингибируют электрическую активность нейронов коры.

Из молекулярных механизмов действия гистамина на ЦНС известно, что он стимулирует аденилатциклазу в срезах головного мозга, причем кофактором этой стимуляции является аденозин.

Интересный факт обнаружен Green et al. (1977): *D*-лизергиновая кислота в отличие от *L*-лизергиновой по конкурентному механизму ингибировала активацию гистамином  $H_2$ -рецепторов, сопряженных с аденилатциклазой, в гиппокампе и коре головного мозга морских свинок.

Трициклические антидепрессанты также блокировали эффекты гистамина, связанные с  $H_2$ -рецепторами ЦНС. Вполне возможно, что гистаминергические нервные волокна вовлечены в реализацию фармакологической активности данных психотропных средств.

**Влияние гистамина на иммунные реакции.** Как указывалось ранее, гистамин и другие медиаторы высвобождаются из тучных клеток и базофильных лейкоцитов при фиксации на их поверхности IgE-антител, появляющихся при аллергии.

В экспериментах на культурах тучных клеток и лейкоцитов Bougne et al. (1971) обнаружили, что добавление гистамина в окружающую среду приводит к повышению содержания в них циклического АМФ и к уменьшению высвобождения из них гистамина в процессе иммунной реакции с антигеном. Добавление в среду  $H_2$ -антагонистов в отличие от  $H_1$ -антагонистов блокировало данное действие гистамина на высвобождение его в ответ на развитие иммунной реакции. Таким образом, гистамин, взаимодействуя с  $H_2$ -рецепторами тучных клеток по механизму обратной связи, может тормозить дальнейшую дегрануляцию клеток, его депонирующих. На основании этих результатов Lichtenstein et al. (1973) сформулирована гипотеза о двойственной роли гистамина в иммунновоспалительных реакциях: с одной стороны, гистамин, увеличивая проницаемость капилляров, усиливает воспаление, но с другой, при повышении его содержания в среде, он через  $H_2$ -рецепторы тучных клеток и лейкоцитов повышает содержание циклического АМФ в них и тем самым ингибирует процесс своего собственного высвобождения.

Гистамин также влияет на  $H_2$ -рецепторы лимфоцитов. Обнаружено, что гистамин ингибирует цитолитическое действие Т-лимфоцитов мышей. Данный эффект гистамина был опосредован цикли-

таким АМФ и...  
Связываясь с  $H_2$ -рецепторами...  
Таким образом, гистамин...  
развития анафилактической...  
ность последующих реакций...

## § 7. Антигистаминные препараты

Теоретически блокировать его нейтрализацию...  
4) блокировать его доступ...  
Как правило, к антигистаминным веществам, действующим более точно их называть антигистаминными, так как они широко используются...

Однако имеются и другие...  
ность гистамина. Например...  
особое место занимают вещества, блокирующие высвобождение гистамина из тучных клеток. Одним из таких препаратов (изохинолина), выпускаемых в нашей стране, является цетиридин. Благодаря своей эффективности он имеет широкое распространение.

Поскольку один из механизмов действия гистамина заключается в связывании его с гистаглобулином, в состав которого входят препараты сывороточных заболеваний, уменьшение высвобождения гистамина из тучных клеток является возможным с помощью циклического АМФ внутри клеток. Как отмечалось ранее, гистамин из клеток, его депонирующих, ингибирует дегрануляцию для лечения бронхитов.

Начиная с 1972 г., когда были доказаны существование отдельных типов гистаминовых рецепторов и антагонистов  $H_1$ -рецепторов и антагонистов  $H_2$ -рецепторов, появилось вещество — 2-метил-2-пропионил-1-пиперидин, обладающее десятилетним стажем, эффективно...



ческим АМФ и полностью блокировался  $\text{G}_2$ -антагонистами бури-  
мамидом и метнамидом.

Связываясь с  $\text{G}_2$ -рецепторами, гистамин ингибировал хемотак-  
сис эозинофилов и базофилов.

Таким образом, гистамин, который высвобождается во время  
развития анафилактических реакций, может влиять на выражен-  
ность последующих реакций иммунного ответа организма.

## § 7. Антигистаминные средства

Теоретически блокировать действие гистамина можно несколь-  
кими путями: 1) ингибировать биосинтез гистамина; 2) стимули-  
ровать его нейтрализацию; 3) ингибировать его высвобождение;  
4) блокировать его доступ к рецепторам.

Как правило, к антигистаминным веществам в литературе от-  
носятся вещества, действующие по четвертому механизму, хотя бо-  
лее точно их называть антагонистами гистаминовых рецепторов,  
так как они широко используются на практике.

Однако имеются и другие средства, способные подавлять актив-  
ность гистамина. Например, среди антигистаминных препаратов  
особое место занимают вещества, задерживающие процесс образо-  
вания гистамина из гистидина путем его декарбоксилирования.  
Одним из таких препаратов является гипостамина (производное  
изохинолина), выпускаемый во Франции. Однако ввиду его невы-  
сокой эффективности он и ему подобные препараты не получили  
широкого распространения в клинике.

Поскольку один из механизмов инактивации гистамина заклю-  
чается в связывании его белками сыворотки крови для нейтрали-  
зации вредного действия гистамина, может быть применен препарат  
гистаглобулин, в состав которого входит  $\gamma$ -глобулин человека. По-  
сле введения препарата сыворотка крови больных аллергическими  
заболеваниями приобретает гистаминапексические свойства.

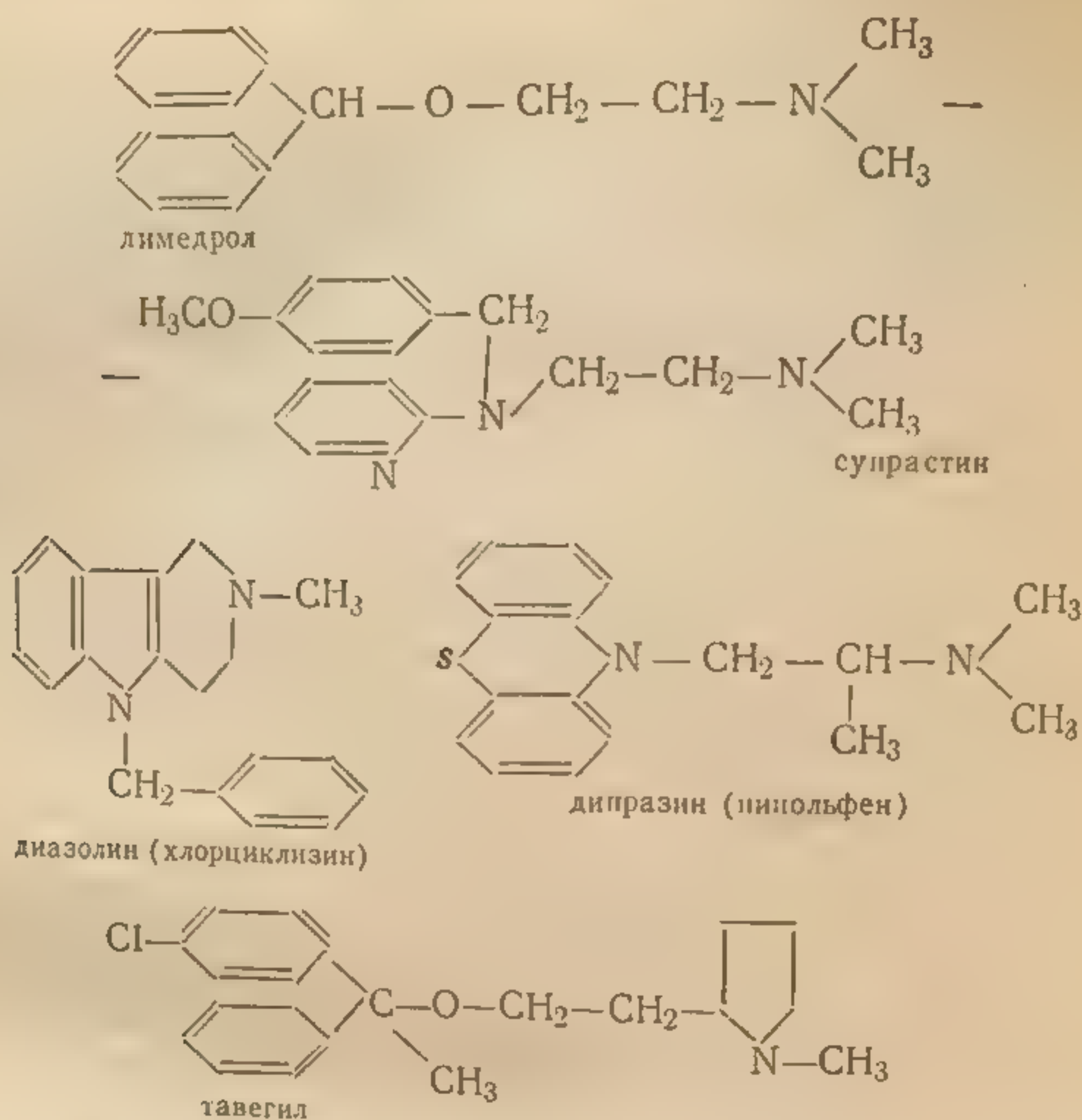
Уменьшить высвобождение гистамина из тучных клеток оказа-  
лось возможным с помощью веществ, повышающих уровень ци-  
клического АМФ внутри клеток за счет угнетения фосфодиэстера-  
зы. Как отмечалось ранее, циклический АМФ тормозит выход ги-  
стамина из клеток, его депонирующих. Эти вещества — хромогли-  
кат динатрия, интал, доксантразол, буфролин — нашли применение  
в клинике для лечения бронхиальной астмы.

Начиная с 1972 г., когда были представлены эксперименталь-  
ные доказательства существования  $\text{G}_2$ -гистаминовых рецепторов и  
созданы их избирательные антагонисты, все антагонисты рецеп-  
торов гистамина разделяют на две группы, а именно: антагонисты  
 $\text{G}_1$ -рецепторов и антагонисты  $\text{G}_2$ -рецепторов.

**Антагонисты  $\text{G}_1$ -рецепторов.** В 1937 г. Bovet, Staub синтезиро-  
вали первое вещество — 2-изопропил-5-метилфеноксидиэтил-  
амин, обладающее конкурентным антагонизмом к гистамину. За  
последующие десятилетия было синтезировано большое число со-  
единений, эффективно блокирующих  $\text{G}_1$ -рецепторы, однако в насто-



ящее время в широкой практике распространены лишь некоторые из них:



Г<sub>1</sub>-антагонисты имеют ароматические или гетероциклические кольца, которые не имеют сходства с имидазольным кольцом. Вероятно эти липофильные кольца взаимодействуют с гидрофобными областями Г<sub>1</sub>-рецепторов. Подобно гистамину Г<sub>1</sub>-антагонисты имеют боковую цепь (обычно аммониевую), которая при физиологических рН заряжена положительно.

Эти вещества угнетают вызываемое гистамином повышение тонуса гладких мышц бронхов и кишечника, проницаемости сосудистой стенки, однако не влияют на индуцируемое гистамином усиление кислотной желудочной секреции, его положительное хронотропное действие на изолированные предсердия морской свинки и изменение тонуса гладких мышц изолированной матки крысы.

Однако Г<sub>1</sub>-антагонисты не тормозят образования гистамина, сами по себе не сужают капилляры, не расслабляют матку и т. п., т. е. не являются функциональными антагонистами гистамина. Функциональным же антагонистом последнего является адреналин.

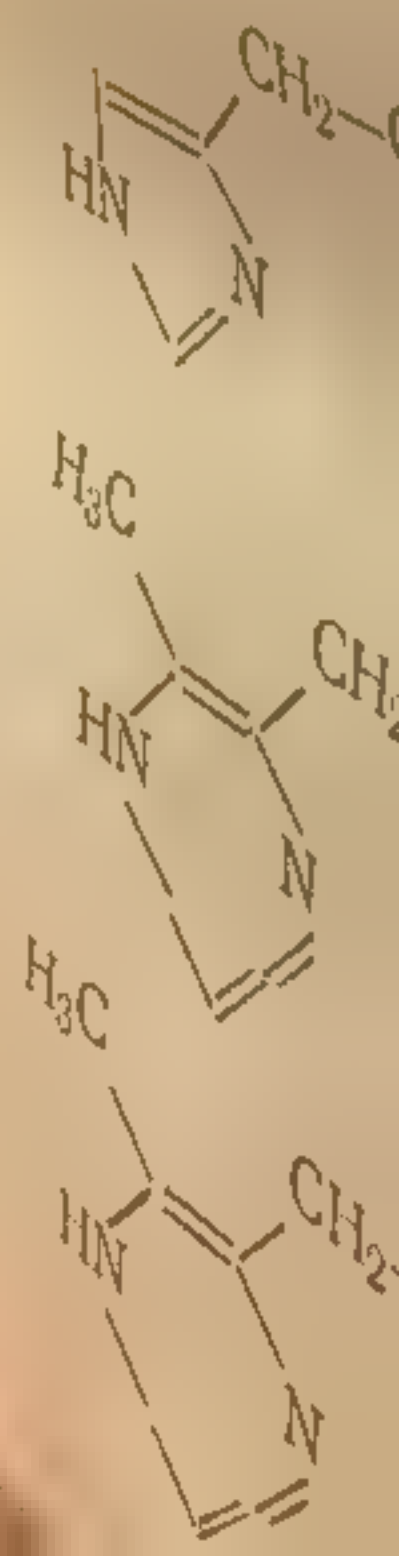
Для определения антигистаминовой активности Г<sub>1</sub>-антагонистов используются различные методы как на отдельных органах, так и на целом организме. Установлено, что один и тот же препарат может иметь различную степень воздействия на разные органы, обладающие Г<sub>1</sub>-рецепторами. Хаушильд приводит такой пример. Одна молекула антигистаминного препарата может парализовать действие 100 молекул гистамина на артериолы, 5 молекул на изолированную кишку и только 0,01 молекулы на кожу.

Средства, блокирующие различные аллергические реакции, сениной лихорадки, лекарственных аллергий (болезни Миньера, хорея). Помимо антигистаминов, обладают местноанестезирующим химическим строением, как у новокаина. Служат антигистаминовое действие.

Г<sub>1</sub>-антагонисты оказываются, подтверждается клиническим морфином; наиболее сильными феноксиазина и пиперазина.

Димедрол, супрастин, ным успокаивающим и снотворным по-видимому, связан с Г<sub>1</sub> влиянием не обладает. В гистаминового и снотворного ружено. Дипразин и диметил-ночь коры и подкорки (Л. С. Толвинская). Оба снотворных и анальгетический являет холинолитическое рою, обладая холинолитическим адреналина (видимо, за

Антагонисты Г<sub>2</sub>-рецепторов начинается с 1972 г., когда новом действии N-метил-ны (буримамида). Позже этого ряда — метиамида и





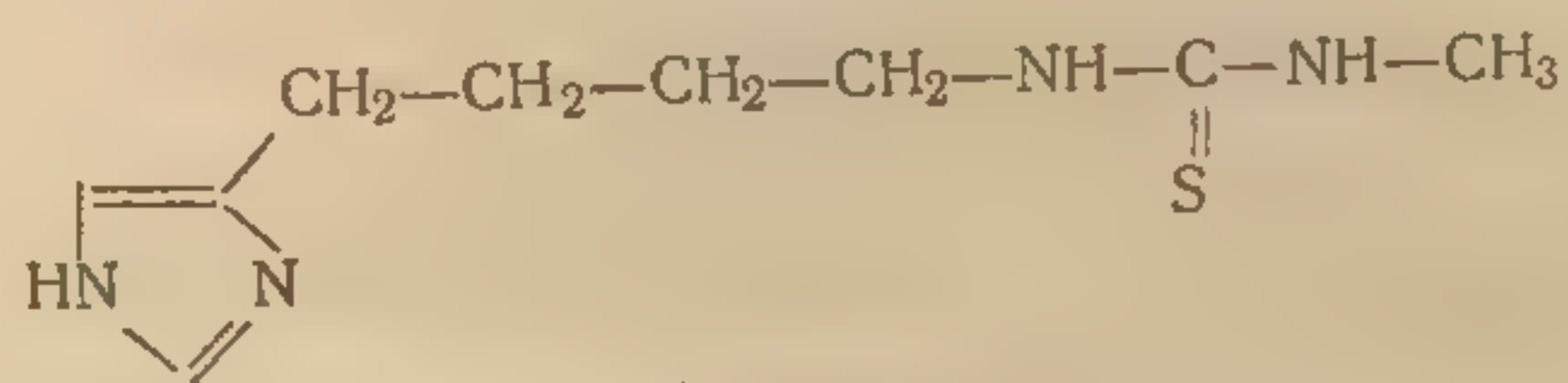
Средства, блокирующие  $H_1$ -рецепторы, назначают для лечения различных аллергических заболеваний (крапивницы, ангионевротического отека, зудящих дерматитов, нарушений функции кишечника, сенной лихорадки, сывороточной болезни, конъюнктивита, лекарственных аллергий), при некоторых нервных заболеваниях (болезни Миньера, хорее, энцефалите, бессоннице).

Помимо антигистаминового эффекта препараты этого ряда обладают местноанестезирующей активностью, которая обусловлена их химическим строением. Боковая цепочка у ряда веществ такая же, как у новокаина. Следует отметить, что новокаину также присуще антигистаминовое действие.

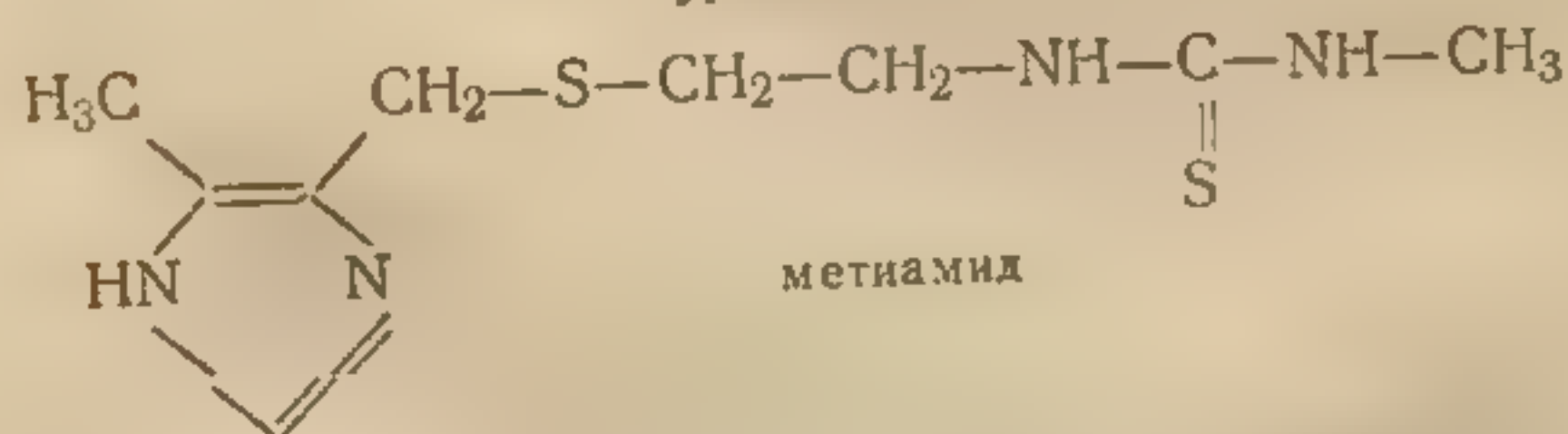
$H_1$ -антагонисты оказывают противорвотное действие, что подтверждается клиническими наблюдениями и экспериментами с апоморфином; наиболее сильно этот эффект выражен у производных фенотиазина и пиперазина.

Димедрол, супрастин, дипразин и тавегил обладают центральным успокаивающим и снотворным действием, механизм которого, по-видимому, связан с  $H_1$ -рецепторами ЦНС. Диазолин подобным влиянием не обладает. Взаимосвязи между выраженностью антигистаминового и снотворного эффекта у этих препаратов не обнаружено. Дипразин и димедрол снижают биоэлектрическую активность коры и подкорковых образований мозга у кроликов (Л. С. Толвинская). Оба они потенцируют действие наркотиков, снотворных и анальгетических средств. Однако если дипразин проявляет холинолитическое и адренолитическое действие, то димедрол, обладая холинолитическими свойствами, усиливает эффект адреналина (видимо, за счет блокады моноаминоксидазы).

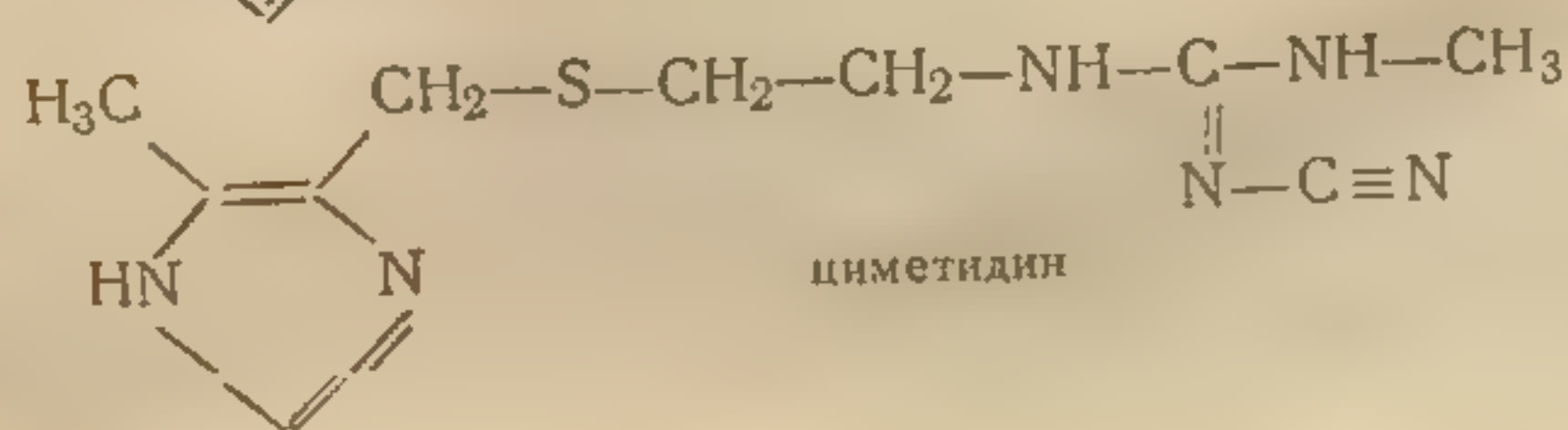
**Антагонисты  $H_2$ -рецепторов.** История изучения этих соединений начинается с 1972 г., когда Black et al. сообщили об антигистаминовом действии N-метил-N'-[4-(4/5 имидазолил)бутил]тиомочевина (буримамида). Позже были синтезированы еще два соединения этого ряда — метиамид и циметидин:



буримамид



метиамид

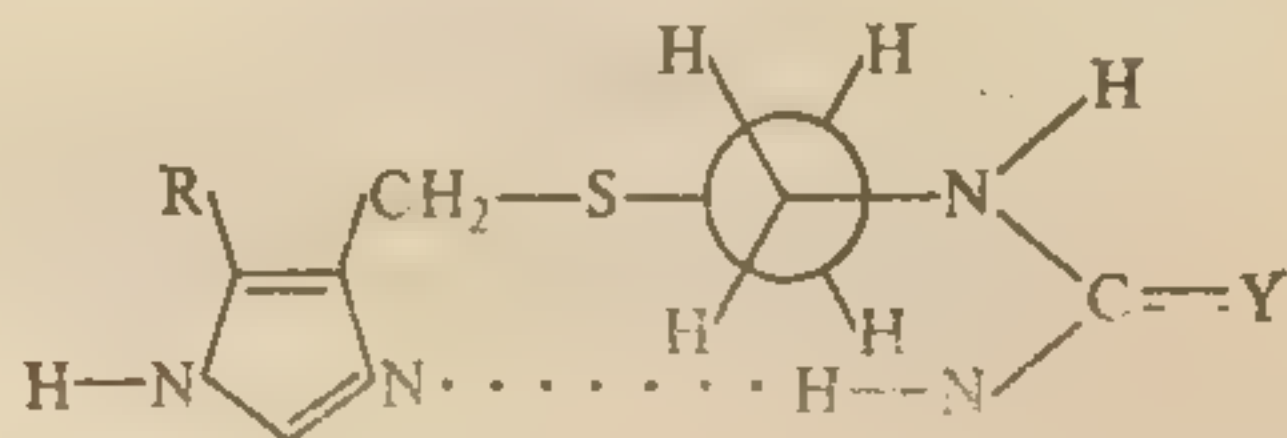


циметидин



В отличие от  $G_1$ -,  $G_2$ -антагонисты гидрофильны. Их сходство с гистамином заключается в том, что в их структуру входит имидазольное кольцо (оно может быть метилировано в четвертом положении). Отличаются же они от гистамина тем, что имеют хотя и полярную, но не заряженную боковую цепь. Возможно, что отсутствие у них гистаминамиметической активности связано именно с незаряженностью боковой цепи.

В кристаллической форме метиамид и циметидин образуют десятичленное кольцо в результате установления внутримолекулярной водородной связи между положительно заряженным атомом имидазольного кольца и наиболее удаленной NH-группой боковой цепи:



Mitchell (1980) с помощью метода инфракрасной спектроскопии показал, что в растворе эти вещества также могут образовывать внутримолекулярные водородные связи и иметь компактную конформацию.

Изучение влияния буримамида, метиамида и циметидина на кислую желудочную секрецию у людей и животных *in vivo* и *in vitro* показало, что они представляют собой эффективные ингибиторы секреции, индуцируемой любыми стимулами. Данные препараты также блокируют ускоряющее действие гистамина на частоту сокращений изолированного предсердия морской свинки и угнетающее действие гистамина на сокращения изолированной матки крыс.

Буримамид заметно влияет на интенсивность желудочной секреции только при внутривенном введении. При пероральном введении он малоэффективен, по-видимому, вследствие быстрой инактивации в желудочно-кишечном тракте. Неспособность буримамида вызывать выраженный фармакологический эффект при пероральном введении ограничивает возможности его применения в практике. От подобного недостатка свободны метиамид, который медленно абсорбируется из желудка, но полностью всасывается в тонком кишечнике, и циметидин, быстро всасывающийся в желудочно-кишечном тракте.

Основной путь выведения  $G_2$ -антагонистов из организма — экскреция с мочой. Значительная часть метиамида и циметидина выделяется в неизмененном виде, среди метаболитов в наибольшем количестве найден сульфоксид. Распределение циметидина было изучено у крыс. Он равномерно накапливался во всех тканях, за исключением ЦНС. Обнаружено, что он быстро покидает все ткани и через 7 дн. после его введения лишь в небольших количествах присутствует в почках, печени и корковом слое надпочечников.



В то время как циметидин и метиамид имеют количественное и качественное сходство по своим фармакологическим свойствам, они различаются по своей токсичности. В ряде случаев применение метиамида сопровождалось нарушениями паренхимы почек и печени, небольшой гиперплазией щитовидной железы, нейтропенией и агранулоцитозом (И. Д. Ионов, 1978). Возможно это связано с наличием в молекуле метиамида тиомочевина. Циметидин, у которого тиомочевина заменена на цианогуанидин, имеет лучшую растворимость и не вызывает данных побочных эффектов. Вследствие этого в клинике в последние годы в основном применяется циметидин.

Антисекреторный эффект  $H_2$ -антагонистов позволяют их применять для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, причиной которых является повышение образования соляной кислоты и пепсина. Их использование позволило получить высокий терапевтический эффект при лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, эрозивного гастрита, пациентов с гиперсекреторными состояниями.

При тщательном клиническом обследовании пациентов, лечившихся циметидином, выявлено, что он очень редко вызывает побочные эффекты. При проверке способности циметидина связываться с андрогеновыми или эстрогеновыми рецепторами было обнаружено, что циметидин не имеет сродства к рецепторам матки крыс, связывавших эстрадиол, но вытесняет дигидротестостерон из участков его связывания в почках мышей.

Таким образом, циметидин, являясь хотя и безопасным и эффективным средством, требует дальнейших исследований как с точки зрения его влияния на другие  $H_2$ -рецепторы, которые широко распространены в организме, так и с точки зрения его взаимоотношений с различными эндогенными биологически активными веществами.

## ГЛАВА 5

### СЕРОТОНИН. СЕРОТОНИНОРЕАКТИВНЫЕ СТРУКТУРЫ. АГОНИСТЫ И АНТАГОНИСТЫ СЕРОТОНИНА

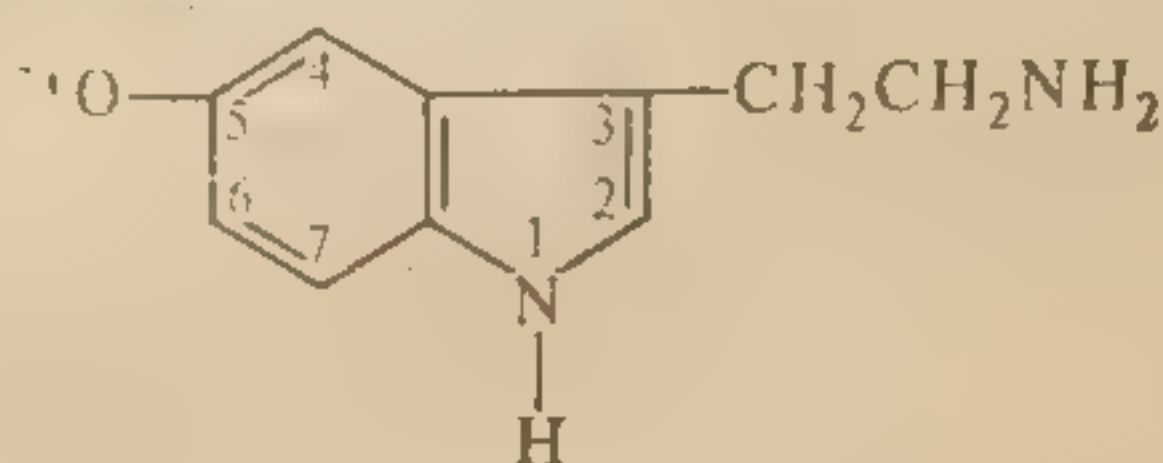
В 1947—1948 гг. Rapport et al. выделили из сыворотки крови соединение, вызывающее сокращение гладких мышц. В дальнейшем было доказано, что активность этого соединения обусловлена индольным основанием 5-окситриптамином. Учитывая источник получения и характер миотропного действия, вещество было названо серотонином. Проведенный анализ показал, что серотонин не отличается от выделенных ранее, но не идентифицированных веществ, получивших названия тромбоцитина и энтерамина. В 1951 г. был осуществлен синтез 5-окситриптамимина, что положило начало его интенсивному изучению. В результате было установлено, что этот амин широко распространен в природе и, в частности, в организме человека, обладает высокой, разнообразной биологической



активностью. Сложилось мнение о важной роли серотонина в физиологии и патологии, а также в механизме действия многих лекарственных средств.

## § 1. Некоторые химические свойства серотонина

5-окситриптами, структурная формула \* которого такова:



имеет молекулярную массу 176,2. В виде свободного основания нестабилен. Поэтому его выделяют и хранят в виде солей или комплекса с креатином, серной кислотой и молекулой кристаллизационной воды. В биологических исследованиях наиболее часто применяется серотонин креатин сульфатного комплекса  $C_{10}H_{12}N_2O \cdot C_4H_7N_3O \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$  (молекулярная масса 405,  $t_{пл} = 207-216^\circ C$ ). Комплекс хорошо растворим в воде, плохо — в жирах, в связи с чем он имеет очень низкий коэффициент распределения в системе масло — вода.  $pK_a$  аминогруппы 5-окситриптамина равен 9,8—10,0. Таким образом, в организме аминогруппа серотонина ионизирована не менее чем на 99%. Вопрос о том, ионизирована ли при физиологических pH оксигруппа 5-окситриптамина, остается недостаточно ясным. В плане оценки потенциальных возможностей 5-окситриптамина взаимодействовать с реактивными структурами тканей обращают внимание на его способность образовывать не только ионные, но и водородные связи (между кислородом оксигруппы, индольным азотом и азотом аминогруппы, с одной стороны, и кислородом, азотом и другими электроотрицательными атомами тканей — с другой). Индольное ядро плоское; оно сильно поляризовано. По теоретическим расчетам наибольший положительный суммарный заряд как в индоле, так и в индольном ядре серотонина принадлежит азоту, наибольший отрицательный — атому C<sup>3</sup>. 5-Окситриптами обладает выраженными электронодонорными свойствами и поэтому может образовывать комплексы с переносом заряда \*\*. Очень важным для межмолекулярного взаимодействия, но недостаточно ясным является вопрос о предпочтительных конформациях молекулы 5-окситриптамина, определяющих взаимное расположение плоскости индольного ядра и аминогруппы боковой цепи. По теоретическим расчетам наиболее вероятное расстояние между атомами азота аминогруппы и индольным азотом равно 5,84 или 3,53 Å, между азотом аминогруппы и кислородом — 6,96 или 4,58 Å, между индольным азотом и кислородом — 5,71 или 5,37 Å.

Из других физико-химических свойств серотонина можно отметить, что его спектр поглощения в водном растворе при pH 3,5 имеет максимум при 275 мкм, дополнительный пик при 295 мкм и минимум при 250 мкм. Серотонин имеет характерный спектр флуоресценции, позволяющий определять минимальные количества этого амина.

\* В формуле обозначены номера атомов индольного ядра.

\*\* Комплекс с переносом заряда — надмолекулярное соединение, образующееся при смещении электрона от молекулы, являющейся его донором, к молекуле, обладающей электроноакцепторными свойствами.



## § 2. Содержание и обмен серотонина у млекопитающих

Непосредственный предшественник 5-окситриптамина в организме — 5-окситриптофан, который в свою очередь образуется при гидроксилировании одной из незаменимых аминокислот — *L*-триптофана. Гидроксилирование происходит под влиянием специфической триптофангидроксилазы (триптофан-5-монооксидазы) в содержащих этот фермент энтерохромаффинных клетках пищеварительного тракта, нейронах ядер шва стволовой части мозга и некоторых других нейронах, в клетках шишковидной железы, а у грызунов также в тучных клетках *L*-форма 5-окситриптофана превращается в 5-окситриптамин под влиянием содержащейся во многих тканях декарбоксилазы ароматических кислот и, возможно, также под влиянием специфической 5-окситриптофандекарбоксилазы нервной ткани.

Синтезированный в цитоплазме энтерохромаффинных клеток слизистой оболочки пищеварительного тракта 5-окситриптамин откладывается в запасяющих гранулах этих клеток. Часть серотонина высвобождается из энтерохромаффинных клеток в просвет желудка и кишечника при пищеварении, другая часть поступает в портальные сосуды. В просвете сосудов серотонин проникает в тромбоциты, являющиеся средством его транспорта и хранения. Не захваченный тромбоцитами серотонин разрушается печенью и другими органами (например, легкими). Поэтому содержание серотонина в плазме вне портальных сосудов обычно не превышает 0,1—2 нг/мл. Содержание серотонина в крови здорового человека колеблется от 0,04 до 0,2 мкг/мл, у кошки — от 0,9 до 4,5, у кролика — от 3,2 до 6,7 мкг/мл. Тучные клетки грызунов способны не только синтезировать, но и захватывать и хранить серотонин. Поэтому в их паренхиматозных тканях серотонина больше, чем у других млекопитающих. Содержание серотонина в сосудах, сердце, почках обусловлено в основном остающейся в них кровью, на содержании серотонина в легких и селезенке сказывается и способность захватывать этот амин, а для селезенки еще и скопление в ней обломков тромбоцитов.

Из крови через гематоэнцефалический барьер серотонин в мозг практически не проникает. В мозге он синтезируется некоторыми нейронами, тела которых в основном расположены в ядрах шва ствола мозга. Хранится серотонин в синаптических пузырьках терминалей этих нейронов, расположенных почти во всех отделах мозга. Наибольшее количество таких терминалей обнаружено в боковых дорзальных коленчатых телах, зрительной покрышке, ядрах миндалевидного образования. Предполагают, что запасы серотонина в мозге находятся в двух формах: высоколабильной и более стабильной. При высвобождении серотонина из терминалей он взаимодействует с соответствующими рецепторами, некоторая его часть вновь поступает в терминали, из которых он выделился. Значительные количества серотонина обнаружены в шишковидной







железе (до 20—70 мкг/г), в сетчатке и пигментном эпителии глаз (до 2 мкг/г).

Период полураспада меченого  $^{14}\text{C}$ -серотонина для тромбоцитов составляет 33—48 ч, клеток пищеварительного тракта — 11—17 ч, ткани мозга — от 2 до 20 мин.

На с. 172 представлены синтез и основные пути обмена серотонина.

У человека 20—52% серотонина инактивируется моноаминоксидазой (МАО), превращаясь в 5-оксииндолацетальдегид, а затем 5-оксииндолуксусную кислоту и в меньшей степени 5-окситриптофол. Дезаминирование различных моноаминов (в частности, серотонина и тирамина) осуществляется различными моноаминоксидазами или различными активными центрами одного фермента. Серотонин может инактивироваться и путем реакций, затрагивающих его оксигруппу при участии церулоплазмينا крови, гемоглобина. Описан и цитохромоксидазный путь его разрушения, его инактивация в результате образования 5-О-сульфата и 5-О-глюкуронида триптамина. Одним из метаболитов серотонина является N-ацетил-5-окситриптамин, превращающийся в шишковидной железе в вещество со своеобразной биологической активностью — мелатонин. При N-метилировании серотонина с помощью неспецифической N-метилтрансферазы ароматических аминов и специфической N-метилтрансферазы индоламинов могут образовываться вещества с выраженным психостимулирующим действием. Подобные продукты обмена находят в моче больных некоторыми психическими заболеваниями. Биологически активное производное серотонина образуется и в процессе его O-метилирования под влиянием оксиндол-O-метилтрансферазы.

### § 3. Влияние серотонина на организм млекопитающих

Одно из основных свойств серотонина — способность вызывать сокращения гладких мышц. Миотропные эффекты полностью ответственны за сокращения изолированной матки, некоторых отрезков пищеварительного тракта, изолированных сосудов, бронхов. В условиях целого организма действие серотонина редко имеет чисто миотропный характер, обычно к нему присоединяются нейротропные эффекты. В большей мере миотропный компонент играет роль в возникновении сокращений некоторых участков толстой кишки собак, бронхов кошек, антидиуретического действия у кошек и собак.

Помимо миотропного эффекта серотонин обладает ганглиостимулирующим действием; он возбуждает симпатические и парасимпатические ганглии даже в условиях блокады их N-холинореактивных структур. Серотонин оказывает и ганглиосенсибилизирующее влияние: повышает чувствительность ганглиев к холиномиметикам. Ганглионарные эффекты полностью ответственны за сокращения некоторых отрезков тонкой кишки морской свинки, желудка собак, быструю фазу сокращения мочевого пузыря собак и кошек, диарею у крыс и мышей. Кроме того, ганглионарные



эффекты наряду с миотропными принимают участие в формировании реакций на серотонин артериального давления, сердца, моторики и секреции желудочно-кишечного тракта.

Картина действия серотонина *in vivo* во многом определяется способностью вызывать рефлекторные реакции: коронарный хеморефлекс, возникающий с рецепторов сердца, проявляющийся брадикардией и гипотензией; дыхательный легочный хеморефлекс с рецепторов легких, проявляющийся остановкой дыхания. Афферентный путь всех этих рефлексов проходит ■ блуждающих нервах. Наиболее выражены эти рефлексы у кошек. Сходные рефлекторные реакции описаны у человека, мышей, крыс, но не у собак. У последних весьма выражены хеморефлексы на серотонин с аортально-каротидной зоны. Свойственны такие хеморефлексы и человеку. В результате влияния серотонина на хеморецепторы аортально-каротидной зоны возникает тахикардия, учащение дыхания; этот хеморефлекс играет определенную роль ■ повышении артериального давления, сокращении селезенки, стимуляции гипофиза и надпочечников. Рефлекторный компонент участвует в возникновении бронхоспазма, изменении кишечной моторики. Серотонин может вызывать боль.

Серотонин способен высвобождать норадреналин ■ результате прямого влияния на симпатические нервные окончания. Этот эффект частично обуславливает сокращение изолированной селезенки кошки, расслабление полоски желудка собаки и крысы, полностью ответствен за положительный инотропный эффект на ушке предсердия кролика, семявыносящем протоке крысы.

*In vivo* этот эффект существенной роли не играет. Способность серотонина даже ■ очень больших дозах возбуждать  $\alpha$ -адренорецепторы кажется сомнительной. Серотонин высвобождает и гистамин. Это обстоятельство — одна из причин «серотониновой» гипотензии у цыплят ■ собак и в меньшей мере у других животных.

Миотропные, ганглионарные и рефлекторные реакции на серотонин, его способность высвобождать другие моноамины обуславливают сложную, часто многофазную картину влияния этого вещества на артериальное давление, частоту сердцебиения, дыхание, моторику пищеварительного тракта. Характер реакций, преобладание миотропного или нейротропного механизма их возникновения зависит от вида животного, наркоза, пути и скорости введения серотонина, исходного состояния органов и систем.

Деятельность эндокринных желез серотонин изменяет ■ основном путем рефлекторного или прямого влияния на систему гипофиз — подбугорная область мозга. Лишь в больших дозах он непосредственно стимулирует щитовидную железу и надпочечники. В сравнительно небольших количествах серотонин усиливает секрецию муцина и пепсина ■ желудке, снижает «гистаминовую» секрецию соляной кислоты. Из других периферических эффектов серотонина можно отметить его способность повышать проницаемость мелких сосудов за счет влияния на их эндотелий, увеличивать агрегацию клеток крови, в том числе тромбоцитов, повышать



свертываемость крови, усиливать фагоцитоз, тормозить рост экспериментальных опухолей, оказывать радиопротекторное действие.

Изучение центрального действия серотонина затруднено его плохим проникновением через гематоэнцефалический барьер. Именно поэтому при экстрацеребральных путях введения серотонина в дозах, меньших чем 1—10 мг/кг, центральный компонент не играет существенной роли в формировании суммарной реакции организма на этот амин. Гематоэнцефалический барьер плохо развит в области гипофиза и подбугорной области, и здесь влияние серотонина может проявляться при введении его внутривенно в меньших дозах. Представление о характере влияния эндогенного серотонина на мозг складывается из данных, полученных при введении его в кровь в дозах свыше 10—20 мг/кг, и результатов опытов с предшественниками серотонина *L*-триптофаном и 5-окситриптофаном, легко проникающим через гематоэнцефалический барьер, а также с веществами, влияющими на содержание серотонина в мозгу. Кроме того, серотонин вводят в желудочки мозга или подводят к отдельным нейронам с помощью ионофореза. В результате применения суммы указанных методов удалось установить следующее. Серотонин понижает спонтанную двигательную активность и оказывает седативное действие, угнетает агрессивное и сексуальное поведение, потенцирует действие снотворных средств, повышает болевой порог, снижает способность к выработке условных рефлексов. Серотонин при внутривенном введении оказывает выраженное двухфазное влияние на рефлексы спинного мозга, повышает порог судорожных реакций. При различных путях введения серотонин может изменять температуру тела. Гипотили гипертермический характер реакций зависит от вида животного, температуры окружающей среды, пути введения амина. Серотонин угнетает возбудимость сосудодвигательных центров, вазомоторные рефлексы, тоническую активность симпатических нервов. При введении серотонина в желудочки мозга возникает рвота. На ЭЭГ серотонин оказывает многофазное влияние, выраженность отдельных фаз зависит от вида животного, пути введения амина, наркоза и ряда других факторов. Возникновение первичной фазы активации при внутривенном введении серотонина большинство авторов связывают с резкими изменениями гемодинамики и рефлекторными реакциями; фазу синхронизации и поздней активации — с непосредственным влиянием серотонина на мозг. При не- посредством ионофоретическом подведении к отдельным нейронам серотонин в условиях барбитурового наркоза всегда тормозит их активность. При исключении барбитуратов серотонин может возбуждать некоторые нейроны коры, сетчатого образования ствола и среднего мозга. Отмечено, что серотонин возбуждает лишь нейроны, отличающиеся низкой чувствительностью к этому амину, что к таким нейронам серотонин в естественных условиях не поступает. Нейроны областей, обильно снабженных выделяющими серотонин терминалями (большинство нейронов бокового коллатерального тела, нейроны *nervus suprachiasmaticus*, миндалевид-



ного тела, оптической крышки), угнетаются серотонином. На синтезирующие и высвобождающие серотонин нейроны шва этот амин влияет лишь угнетающе. Таким образом осуществляется система «обратной связи», при которой серотонин препятствует дальнейшей активации выделившего его нейрона. Однако одни из серотонинсодержащих нейронов шва возбуждаются серотонином, другие — угнетаются им. В общей картине влияния серотонина на центральную нервную систему преобладают успокоение, сонливость, уменьшение реакций на внешние стимулы.

При изучении влияния серотонина на различные биохимические процессы многими исследователями была отмечена его способность угнетать тканевое дыхание *in vitro*, а в ряде случаев и *in vivo*. В большой степени он угнетает окисление НАД-зависимых субстратов, возможно, за счет комплексообразования с цитохромом С и никотинамиддинуклеотидом (НАД). Фосфорилирование в большинстве случаев угнетается сильнее, чем тканевое дыхание. Серотонин увеличивает содержание НАД в сердце. Выраженное влияние он оказывает на углеводный обмен: *in vivo* серотонин вызывает гипергликемию как за счет высвобождения адреналина из надпочечников, так и непосредственно путем стимуляции фосфоорилазы и гликогенолиза печени. Серотонин повышает активность лактатдегидрогеназы, увеличивает образование молочной кислоты в мышцах, уменьшает ее использование печенью; количество молочной кислоты в крови растет; в результате этого, а также повышения активности фосфоорилазы миокарда и гиперсекреции инсулина увеличивается количество гликогена в сердце. Недавно было показано, что у млекопитающих, как и у беспозвоночных (см. с. 175), серотонин повышает количество циклической 3,5-АМФ в некоторых клетках. Обмен белков и нуклеотидов проявляет к серотонину значительную устойчивость. Не исключено, что некоторые из описываемых эффектов являются следствием вызываемых серотонином изменений деятельности различных органов или ионной, в первую очередь кальциевой, проницаемости, столь чувствительной к действию серотонина.

#### § 4. Значение серотонина в физиологических и патологических реакциях

Представления о роли серотонина в норме и при различных заболеваниях складываются в основном из учета сведений о широком его распространении в организме, изменении содержания и обмена при ряде патологических состояний и высокой биологической активности серотонина. Значение серотонина в деятельности пищеварительной системы многообразно. Как было уже отмечено, серотонин выделяется во время еды в просвет желудка, при этом он активизирует секрецию пепсина, влияет на гистаминовую секрецию. Есть данные о способности серотонина ингибировать трипсин и химотрипсин, активировать перистальтику кишеч-



ника. Доказана и важная роль серотонина в патогенезе ряда заболеваний пищеварительного тракта, в частности демпинг-синдрома, нередко возникающего после операций на желудке. Серотонин — определяющий фактор в происхождении карциноидного синдрома, возникающего при опухоли, происходящей из энтерохромаффинных клеток кишечника, реже других органов. Видимо, серотонин играет роль в патогенезе язвенной болезни, циррозов печени, нетропической формы спру.

Вопрос о возможной роли серотонина в регуляции сосудистого тонуса изучен недостаточно. При инфаркте миокарда, тромбоэмболиях легких серотонин выделяется из кровяных пластинок сгустка, а при инсульте, кроме того, из ткани мозга. При этих заболеваниях, а также при ревматизме, мерцательной аритмии, мигрени нарушается обмен серотонина.

Высвобождаясь из тромбоцитов и тучных клеток серотонин играет важную роль в возникновении аллергических состояний, первой фазы анафилактического шока и начальных проявлений некоторых форм воспаления. При облучении происходят значительные изменения содержания и обмена серотонина, который является радиопротектором.

Обмен серотонина нарушается при сахарном диабете; при тиреотоксикозе повышается количество серотонина в крови; при микседеме оно снижено. Серотонину приписывают определенную роль в процессах оплодотворения, родов, происхождении дисменореи, предменструального синдрома, некоторых симптомов патологического климакса.

Серотонин играет важную роль в механизме сна, болевой чувствительности, терморегуляции, деятельности рвотного центра, регуляции секреции гормонов гипофиза. Предполагают, что в одних областях мозга серотонин является медиатором (например, в *nucleus suprachiasmaticus*, в других, таких, как боковое коленчатое тело, — модулятором (серотонин может влиять на высвобождение и эффект ацетилхолина, который считают в данном случае медиатором. Доказано существование серотонинергических нейронов, исходящих из ядер медиального сетчатого образования, афферентных по отношению к выделяющим серотонин и чувствительным к нему нейронам шва.

Нарушение обмена серотонина, очевидно, имеет место при ряде психических заболеваний. Так, у больных острым алкогольным психозом в биологических жидкостях находят индолы, обладающие психотомиметическим эффектом. Алкоголь уменьшает деаминацию серотонина. У больных шизофренией, страдающих галлюцинациями, в моче находят буфотенин, у них изменена активность ряда ферментов, участвующих в обмене серотонина. Интересно отметить, что все известные галлюциногены, как являющиеся аномальными продуктами обмена серотонина, так и не относящиеся к этой категории, в том числе LSD-25, угнетают активность серотонинергических нейронов шва и обмен серотонина в них. Полагают, что ослабление тормозных влияний ней-



ронов шва на оптические пути и лимбическую систему могут способствовать появлению некоторых аффективных реакций и зрительных ощущений. Ряд данных свидетельствует о роли серотонина в патогенезе маниакально-депрессивного психоза. Ухудшение настроения ■ депрессивную фазу связывают с понижением, а улучшение настроения в маниакальную — с повышением количества серотонина в мозге.

Таковы в самых общих чертах современные представления о роли серотонина ■ физиологии и патологии.

### § 5. Общее понятие о серотонинореактивных структурах, их возможном строении и методе фармакологической характеристики

Как следует из приведенных фактов, серотонин оказывает выраженное влияние на многие функции организма. Между тем еще мало известно о молекулярном механизме действия серотонина, о путях его взаимодействия с серотониновыми рецепторами. Термином «серотониновые рецепторы» обозначают те функциональные группы макромолекул, с которыми взаимодействует серотонин, запуская последовательную цепь процессов, приводящих в конечном итоге к специфическому эффекту. Макромолекулы, ■ состав которых входят серотониновые рецепторы, называют серотонинореактивными структурами. Иногда термин серотонинореактивная структура употребляется в том же значении, как и термин серотониновый рецептор. Такое отождествление не целесообразно, ■ особенности если учесть, что различные вещества, с помощью которых проводится фармакологическая характеристика серотонинореактивных структур, могут взаимодействовать либо только с областью серотонинового рецептора, либо с этой областью и соседними участками макромолекулы — серотонинореактивной структуры, либо только с отдаленным от серотонинового рецептора участком этой структуры.

Имеющиеся данные о конкретной биохимической природе серотонинореактивных структур весьма ограничены ■ касаются лишь структур, расположенных в гладких мышцах и мозге. Серотонинореактивные структуры гладких мышц расположены, очевидно, не внутри мышечных клеток, а на их поверхности. Об этом свидетельствуют отсутствие серотонина внутри мышечных клеток во время их сокращения, неспособность серотонина сокращать изолированные нити актомиозина и то, что угнетение активности внутриклеточного фермента МАО не усиливает миотропные эффекты серотонина. Серотонинореактивные структуры гладких мышц идентичны определенным ганглиозидам их клеточной мембраны, например диневраминилцерамид лактозиду. Эти ганглиозиды, как было показано в опытах *in vitro*, дают комплекс с серотонином и ионом кальция, растворимый в липидах. Полагают, что такой комплекс проникает через липидный слой мембраны, затем разрушается, высвобождая ионы кальция, которые и обуславливают



мышечное сокращение. Способность серотонина увеличивать поступление в гладкомышечные клетки ионов кальция из окружающей среды доказана.

В пользу описанной гипотезы свидетельствуют опыты, в которых нейраминидаза — фермент, разрушающий в ганглиозидах гликозидную связь, и ЭДТА, связывающий ионы кальция, в малых концентрациях резко уменьшают чувствительность гладкомышечных органов к серотонину, не влияя на их реакции на ацетилхолин и адреналин. Добавление в среду различных ганглиозидов или входящих в их состав нейраминных кислот восстанавливает способность органов реагировать на серотонин.

Считают, что нейраминидаза и ЭДТА влияют не на сами серотонинореактивные структуры, а на одно из звеньев цепи, расположенной между серотониновым рецептором и эффектором.

Клеточная мембрана имеет потенциальные «поры», представленные комплексом липида с белком, ганглиозидом или другим соединением. Вещества, близкие по строению к одному из входящих в комплекс элементов, конкурируют с ним, в результате происходит изменение конформации и образуются полярные поры, размер и заряд стенок которых определяют проникновение внутрь клетки того или иного иона. Элементом комплекса, с которым взаимодействует серотонин, по этой гипотезе является некая молекула (возможно, ганглиозид), ■ отсутствие серотонина обратимо связанная с триптофаном мембраны; ионом, проникающим внутрь клетки ■ результате изменения конформации комплекса, является кальций.

Усиление поступления в мышечные клетки ионов кальция из окружающей среды, очевидно, не единственный механизм «серотонинового» сокращения гладкомышечных органов. В опытах на некоторых органах отмечено и высвобождение под влиянием серотонина внутриклеточного кальция. Миотропный эффект серотонина сопровождается не только увеличением содержания ионов кальция ■ клетках, но и выходом из них ионов калия. Таковы современные, ■ носящиеся во многом гипотетический характер, представления о строении серотонинореактивных структур гладких мышц и о механизмах, сопрягающих возбуждение этих структур с сократительным эффектом.

Данные о биохимической сущности серотонинореактивных структур вегетативных ганглиев и чувствительных нервных окончаний отсутствуют. Серотонинореактивные структуры мозга, по мнению ряда авторов, представлены ганглиозидами. Отмечено высокое сродство к серотонину сиалогликопротеинов, сиалогликолипидов и протеолипидов. В пользу белковой природы взаимодействующих с серотонином структур мозга свидетельствует уменьшение связывания серотонина протеолитическими ферментами. Взаимосвязь отдельных изученных *in vitro* компонентов клетки, обладающих высоким сродством к серотонину, и серотонинореактивных структур, ответственных за возникновение различных центральных его эффектов, остается недостаточно ясной.



Один из плодотворных методов изучения серотонинореактивных структур — метод их фармакологической характеристики с помощью агонистов и антагонистов серотонина. Агонисты серотонина — это вещества, вызывающие серотониноподобный эффект в результате взаимодействия с серотониновыми рецепторами. Конкурентные антагонисты вступают во взаимодействие с серотониновым рецептором и соседними областями серотонинореактивной структуры, не вызывая специфического для серотонина эффекта, но снижая количество свободных рецепторов; они блокируют реакции на серотонин и его агонисты. Конкурентные антагонисты образуют с рецепторами относительно легко диссоциирующий комплекс. Вещества, образующие с рецептором плохо диссоциирующий комплекс, вызывают их необратимую блокаду. Они называются неравновесными антагонистами. Предполагают, что эффект серотонина может быть блокирован и веществами, реагирующими с гипотетическими аллостерическими участками реактивных структур, в результате чего изменяется способность рецепторов взаимодействовать с серотонином. Такие вещества получили название неконкурентных антагонистов серотонина. Вещества, блокирующие эффекты серотонина не в результате взаимодействия с серотонинореактивными структурами, а путем воздействия на любые другие звенья реакции между серотонинореактивной структурой и эффектором или на эффектор, не относятся к числу антагонистов серотонина.

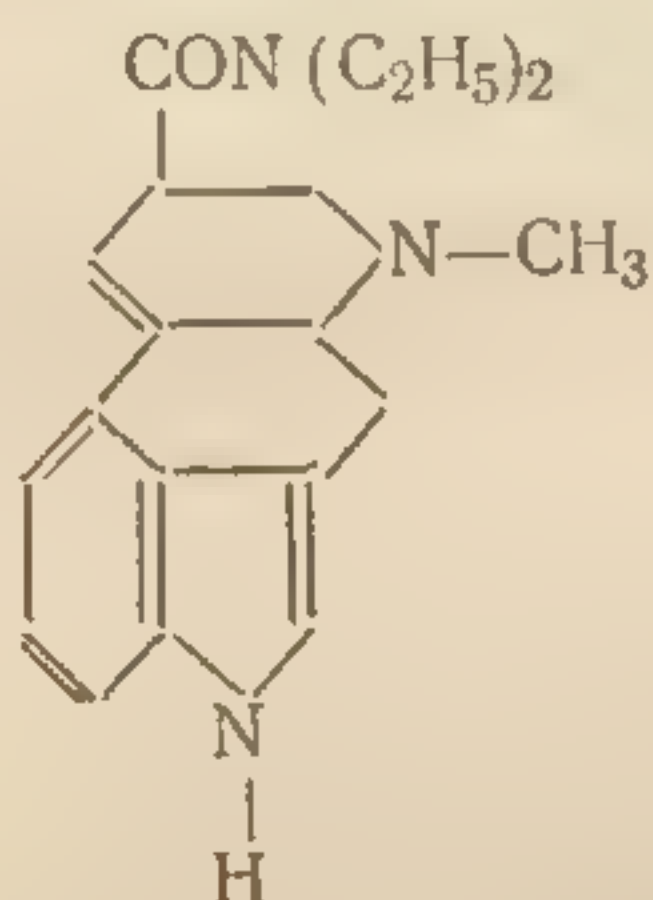
Имеется большое количество данных о влиянии различных агонистов и антагонистов серотонина на серотонинореактивные структуры. Агонисты и антагонисты серотонина были использованы с целью дифференцировать серотонинореактивные структуры от других реактивных структур организма; с их помощью было доказано существование нескольких типов серотонинореактивных структур. Серотонинореактивные структуры гладких мышц по чувствительности к антагонистам серотонина отличаются от таковых вегетативных ганглиев. Сопоставление строения и активности агонистов и антагонистов серотонина дает дополнительную информацию относительно возможного строения серотонинореактивных структур различных типов.

#### § 6. Фармакологическая характеристика серотонинореактивных структур гладких мышц. Агонисты и антагонисты серотонина D-типа

Избирательная чувствительность ряда гладкомышечных органов к серотонину, неспособность холино-, адренолитиков, а также блокаторов гистамина, кининореактивных структур угнетать миотропные эффекты серотонина, различия во влиянии нейраминидазы, ЭДТА на сокращения, вызванные серотонином, с одной стороны, и ацетилхолином, ионами бария, кальция и прочими агонистами — с другой, давали основание считать, что сокращения гладких мышц под влиянием серотонина обусловлены наличием специфических



серотониновых рецепторов. Однако вопрос о своеобразии тех или иных реактивных структур тканей может быть окончательно решен лишь в случае обнаружения веществ, избирательно блокирующих эти структуры. Одним из первых подобные свойства были обнаружены у диэтиламида *D*-лизергиновой кислоты (*LSD-25*), строение которого можно представить так:

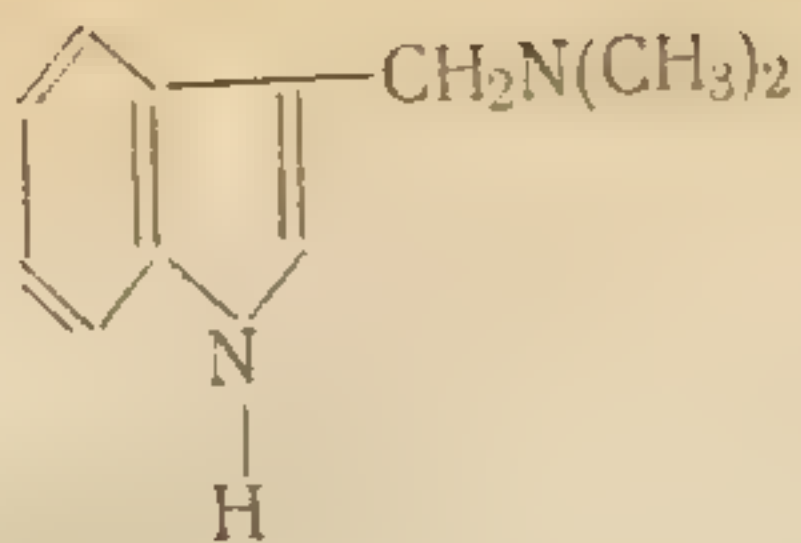


*LSD-25* избирательно угнетает «серотониновые» сокращения изолированных матки, сосудов, бронхов в концентрациях  $1 \cdot 10^{-9}$ — $1 \cdot 10^{-8}$  г/мл, не изменяя реакции этих органов на окситоцин, ацетилхолин, катехоламины, гистамин и т. д. При кратковременном воздействии *LSD-25* в указанных концентрациях его эффект можно преодолеть добавлением больших количеств серотонина. В связи с непостоянством участия миотропного компонента в происхождении эффектов серотонина *in vitro* и неспособностью *LSD-25* угнетать ганглионарные, рефлекторные и некоторые другие «серотониновые» реакции блокирующая активность *LSD-25* в условиях целого организма отличается значительной вариабельностью. При внутривенном введении в дозах 3—50 мкг/кг *LSD-25* уменьшает «серотониновый» бронхоспазм, антидиуретическое действие, сокращения отдельных участков кишечника у многих млекопитающих.

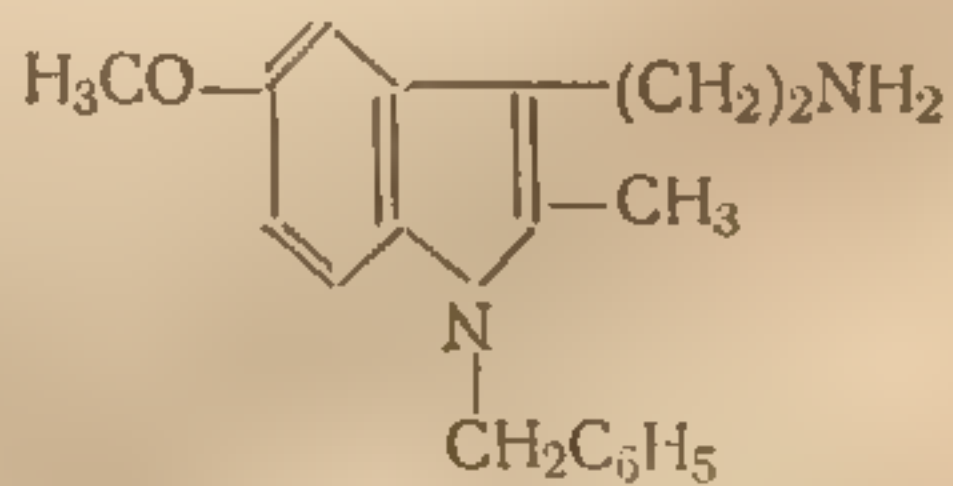
Диэтиламид *L*-лизергиновой кислоты и изолизергиновой кислоты значительно уступают *LSD-25* в активности. Активность производных лизергиновой кислоты — естественных и дегидрированных алкалоидов спорыньи группы эрготамина, эргозина, эргокристина, эргокорнина — составляет десятую — сотую часть таковой *LSD-25*. Более сильными антагонистами являются некоторые производные эргоновина и особенно эргобазина.

Сам индол и производные диалкилиндола или оксииндола, не содержащие аминогруппы, не проявляют ни серотониноподобных, ни антисеротониновых свойств. Введение аминогруппы в пятое положение 2,5-диалкилиндола приводит к появлению антисеротониновой активности. Наиболее активный препарат этого ряда 1,2-диметил-3-этил-5-диметиламиноиндол (метилмедмаин). Слабой способностью блокировать миотропные эффекты серотонина обладает грамин:

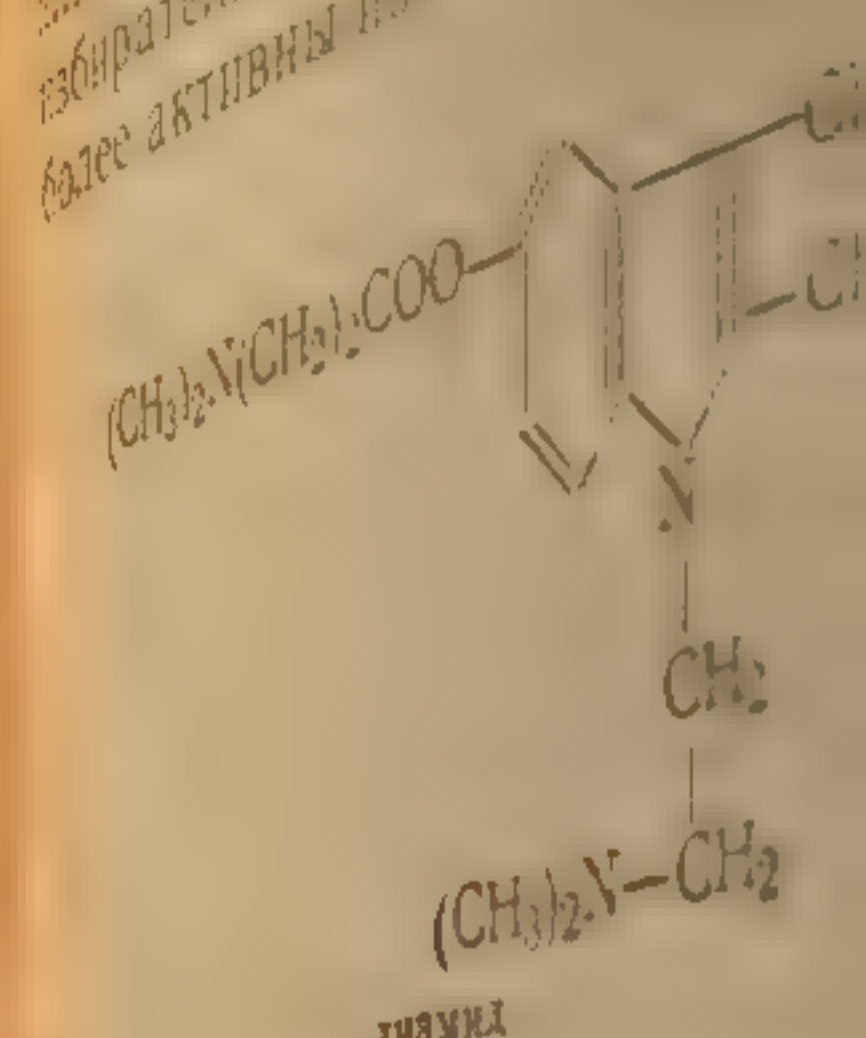




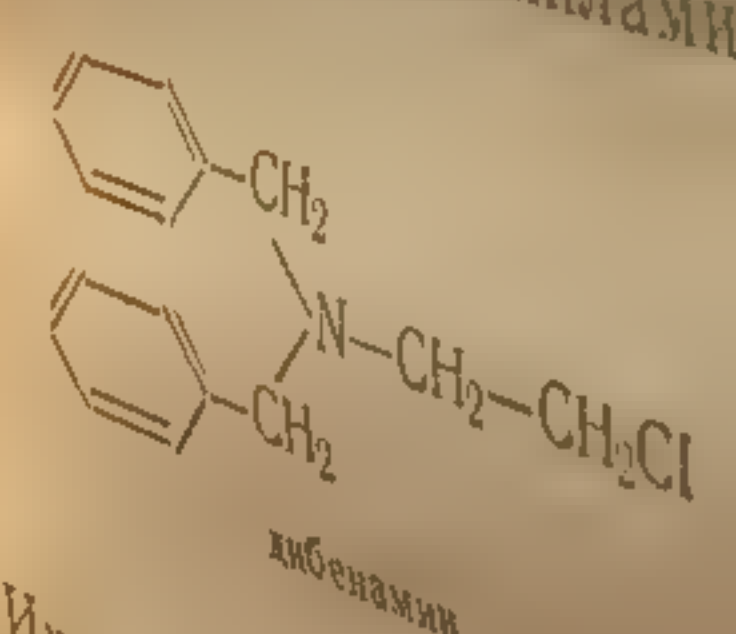
Эта способность резко возрастает при введении в 1, 4, 6 и особенно 5-е положение индольного ядра таких заместителей, как  $\text{CH}_3$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{OCH}_2$ ,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $\text{Cl}$  или  $\text{Br}$ . Тем не менее эти соединения в 10—100 раз уступают *LSD-25* по антисеротониновой активности. В отличие от грамина триптамиин вызывает сокращения гладкомышечных органов. *LSD-25* в большинстве случаев блокирует этот эффект. Концентрации, в которых триптамиин вызывает максимальное сокращение, в 170—200 раз больше таковых для 5-окситриптамиина. Уступает в активности 5-окситриптамиину 4-окситриптамиин. 6-Окситриптамиин практически не активен. Полагают, что меньшая активность триптамиина по сравнению с серотонином объясняется лучшей растворимостью первого в липидах, в результате чего триптамиин легко проникает в клетку и снижается его концентрация в области серотониновых рецепторов клеточной мембраны. Меньшую активность 4-окситриптамиина связывают с влиянием положения оксигруппы на константу ионизации аминогруппы триптамиина. 5-Метокситриптамиин (мексамин) в 8—10 раз уступает серотонину по способности стимулировать изолированную матку крысы; после возбуждения наступает короткий период, когда матка не отвечает на серотонин. При введении в аминогруппу или  $\alpha$ -положение боковой цепи триптамиина, 5- или 4-окситриптамиина алкильных или арильных заместителей способность веществ вызывать серотониноподобный эффект снижается и появляются антисеротониновые свойства. Слабыми блокаторами миотропных эффектов серотонина являются производные триптамиина, боковая цепь которых не содержит заместителей, в случае если они имеют метоксигруппу в пятом положении и арильные или алкильные группы в первом и втором положениях индольного ядра. К таким соединениям, например, относится *BAS* (1-бензил-2-метил-5-метокситриптамиин):



Производные  $\beta$ - и  $\gamma$ -карболина не обладают серотониноподобной активностью, но проявляют способность блокировать миотропные эффекты серотонина. Некоторые производные тетрагидро- $\beta$ -карболина лишь в 4—10 раз уступают *LSD-25* по антисеротониновой ак-



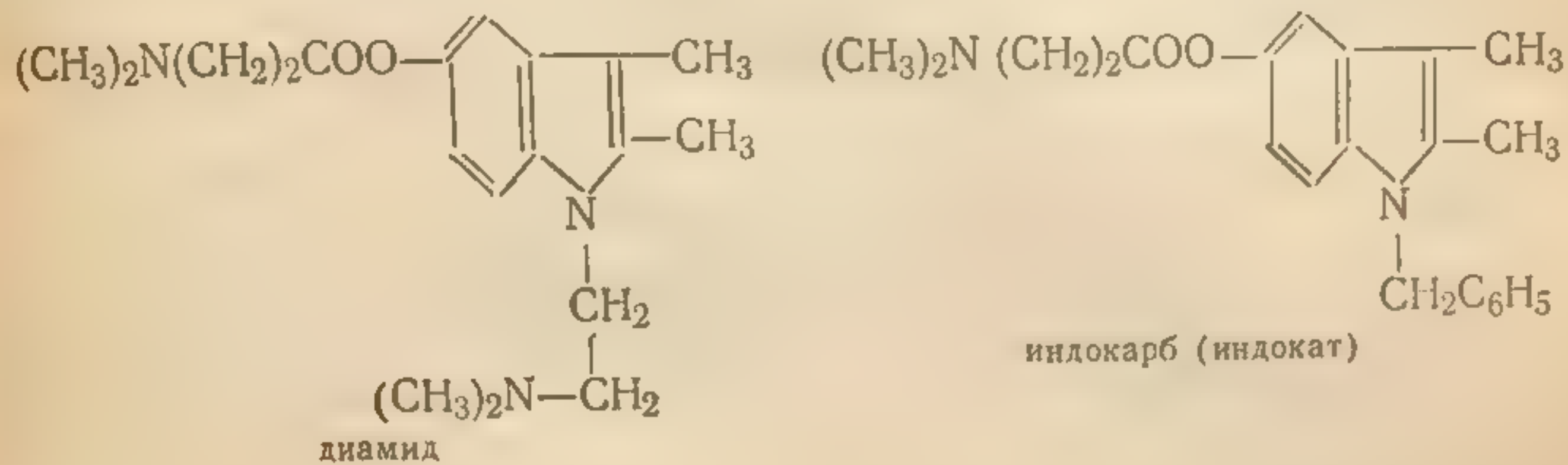
Они уступают по антисеротониновому  
раз.  
Индольная природа не объясняет  
степени серотонина. Изостеры 5-о  
индольного азота атомы серы, вызы  
вать такое же, как и серотонин  
гладкомышечных органов, но в ко  
нечных. Среди производных этих  
нестероидных серотонина. К одним из  
тропных эффектов серотонина  
изводные  $\beta$ -галогеналкилами



Их антисеротониновая актив  
*LSD-25*; действие их очень  
способны реагировать на с  
дней. Избирательность дей  
угнетают сокращения гладк  
холином, норадреналином,  
ми калия или прямой эл  
показал, что антисеротони  
обусловлены блокадой сер  
адреналина. Влияние различ  
Блокада различных рецеп  
Влияние миансерина

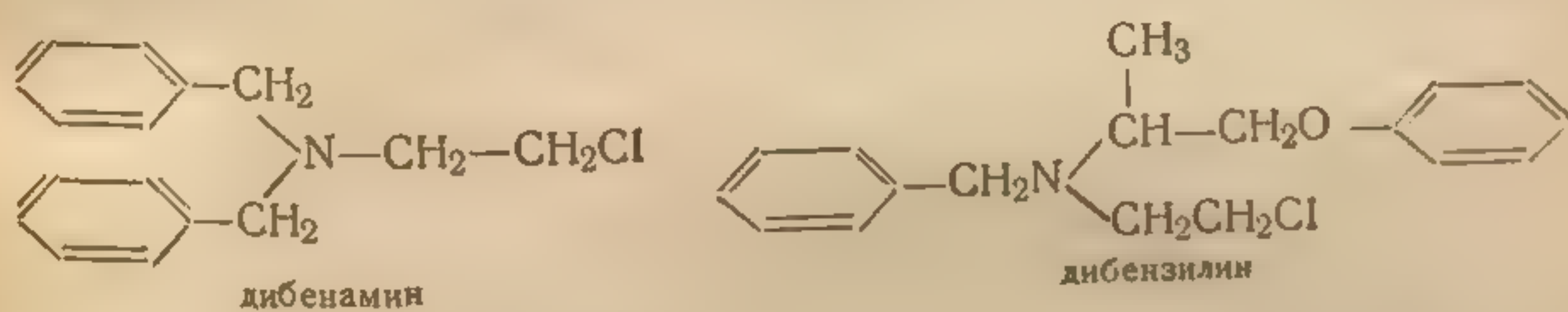


тивности; несколько содержащих галлоидные заместители производных  $\gamma$ -карболина равны по активности *LSD*-25.  $\beta$ -Диалкиламиноалкиловые эфиры индолкарбоновых кислот обладают способностью избирательно блокировать миотропные эффекты серотонина. Наиболее активны из них следующие препараты:



Они уступают по антисеротониновой активности *LSD*-25 в 10—20 раз.

Индольная природа не обязательна для агонистов и антагонистов серотонина. Изостеры 5-окситриптамина, имеющие вместо индольного азота атомы серы, углерода или кислорода, способны вызывать такое же, как и серотонин, максимальное сокращение гладкомышечных органов, но в концентрациях в 8—10 раз более высоких. Среди производных этих изостеров описаны и слабые антагонисты серотонина. К одним из наиболее сильных блокаторов миотропных эффектов серотонина неиндольной природы относятся производные  $\beta$ -галогеналкиламина:

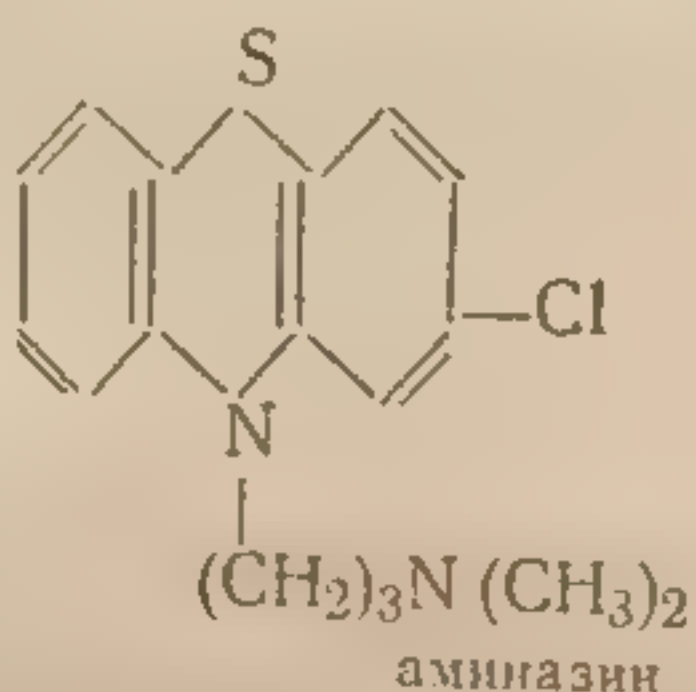


Их антисеротониновая активность лишь в 10 раз уступает таковой *LSD*-25; действие их очень длительно: *in vivo* восстановление способности реагировать на серотонин происходит через 10 и более дней. Избирательность действия невелика: дибенамин и дибензилин угнетают сокращения гладкомышечных органов, вызванные ацетилюголином, норадреналином, гистамином, но не ангиотензином, ионами калия или прямой электростимуляцией. Проведенный анализ показал, что антисеротониновые свойства  $\beta$ -галогеналкиламинов обусловлены блокадой серотониновых рецепторов, равно как их адренолитические свойства объясняются блокадой  $\alpha$ -адренорецепторов, холинолитические — блокадой М-холинорецепторов и т. д. Блокада различных рецепторов обусловлена их алкилированием. Влияние миансерина

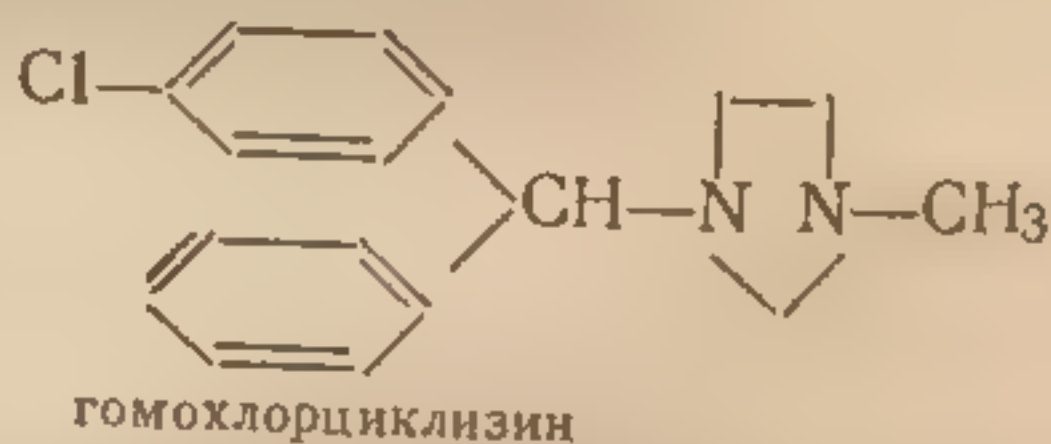
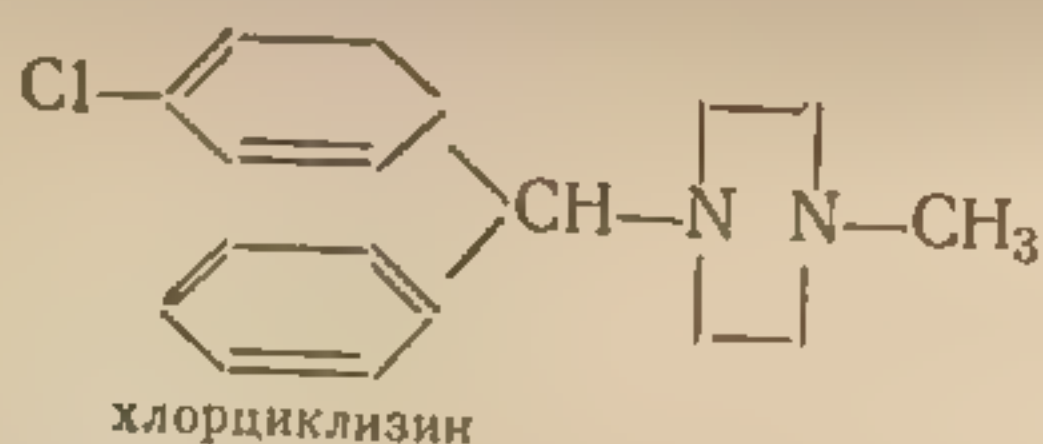




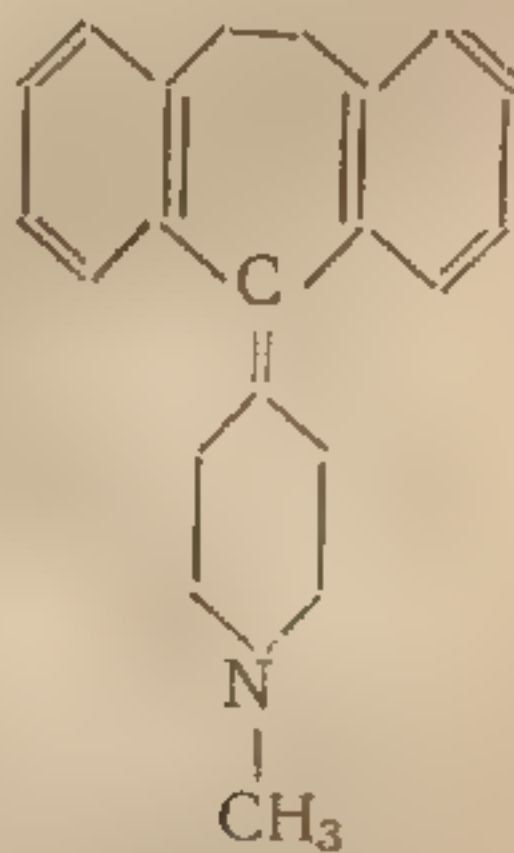
на серотониновые рецепторы остается недостаточно ясным. Есть данные и о его антисеротониновом и серотониноподобном эффекте. Производные фенотиазина (аминазин, дипразин, трифтазин):



в опытах на изолированных органах приближаются по антисеротониновой активности к *LSD-25*; *in vivo*, однако они уступают *LSD-25* в 100 и даже 1000 раз. Антагонизм носит неконкурентный или смешанный характер, но отличается определенной избирательностью: реакции некоторых органов на серотонин угнетаются производными фенотиазина в меньших концентрациях, чем реакции, вызванные катехоламинами и хлористым барием. Антигистаминные препараты хлорциклизин и гомохлорциклизин:

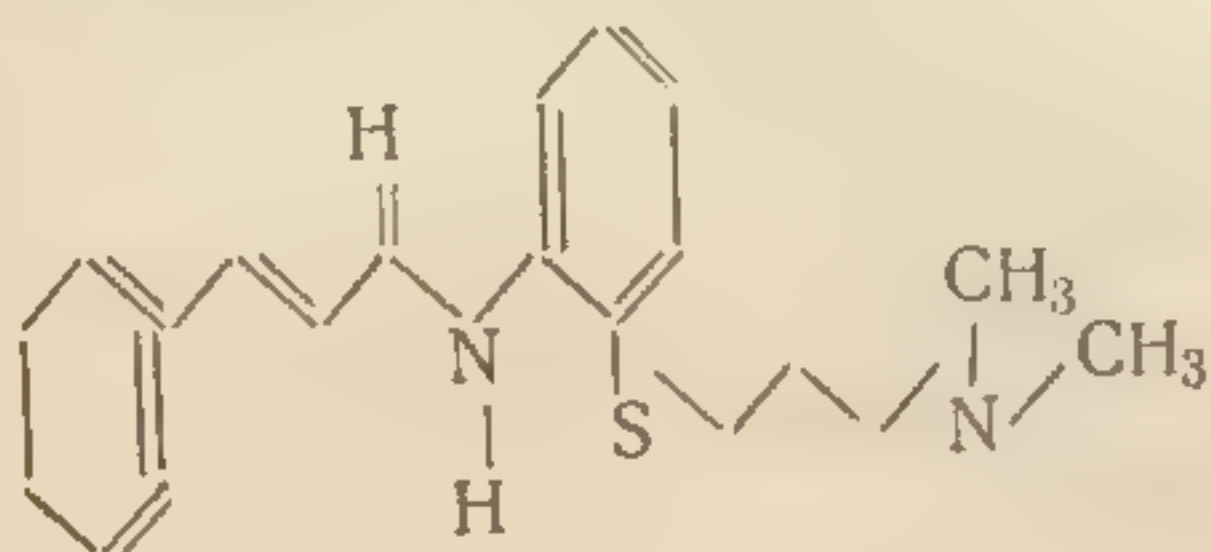


в опытах *in vitro* в 2—5 раз уступают *LSD-25* по антисеротониновой активности. Препарат ципрогептадин





обладающий антигистаминавыми и антибрадикининными свойствами, превосходит *LSD-25* по способности предотвращать «серотониновые» сокращения многих изолированных органов. Его антисеротониновые свойства *in vivo* проявляются в дозах 100—200 мкг/кг. Характер антагонизма не изучен. Слабой антисеротониновой активностью обладает цинансерин:



Морфин, 5-окси-3-индолацетамидин, 2-антрилгуанидин, 2-акрильгуанид, новокаин, совкаин, кокаин, типиндол не угнетают миотропные эффекты серотонина в дозах, в которых они влияют на рефлекторные или ганглионарные его эффекты.

Итак, данные о наличии специфических блокаторов серотонинореактивных структур гладких мышц подтверждают своеобразие этих структур, их отличие от других реактивных структур клеток. Поскольку первыми веществами, для которых была доказана способность блокировать серотонинореактивные структуры гладких мышц, были *D*-диэтиламид лизергиновой кислоты, дибензилин и дигидроэрготамин, структуры, высокочувствительные к этим антагонистам, были названы *D*-серотонинореактивными структурами. Многочисленные вещества, взаимодействующие с этими структурами, получили название агонистов и антагонистов серотонина *D*-типа.

Д-типа. Сопоставление строения, физико-химических свойств и активности Д-агонистов и Д-антагонистов серотонина позволяет сделать некоторые выводы о роли отдельных элементов их молекулы в процессе взаимодействия с Д-структурами и отчасти о возможном строении этих структур. Так, изучение зависимости константы ионизации аминогруппы серотонина и некоторых его агонистов дало основание полагать, что вещества в ионизированной форме взаимодействуют с каким-то анионным участком Д-рецептора. Опыты с дибенамином и дибензилином показывают, что анионные группы Д-структур не совпадают с таковыми для гистамино-, холино-, адреснорактивных структур. Сопоставление межатомных расстояний в молекуле LSD-25, медмаина и серотонина в предпочтительной конформации последнего позволило предположить, что расстояние между основным и индольным атомами азота в том состоянии молекулы серотонина, в котором он реагирует с Д-рецептором, равно 5,84 Å. Наличие и положение оксигруппы у производных триптамина, очевидно, сказывается на взаимодействии веществ с Д-рецепторами лишь через уменьшение растворимости веществ в липидах.



что влияет на их концентрацию в области рецепторов и через изменение константы ионизации аминогруппы. Наличие индольного ядра способствует большей избирательности действия агонистов и антагонистов. Вещества неиндольной природы угнетают обычно не только эффекты серотонина, но и других миметиков. Серотонин и все исследованные Д-антагонисты обладают выраженными электронодонорными свойствами. Гистидин, тирозин, фенилаланин и их производные этими свойствами не обладают. В связи с этим выдвигается предположение о роли электронодонорных свойств серотонина, его агонистов и антагонистов в их взаимодействии с серотонинореактивными структурами. Обладают ли электроноакцепторными свойствами ганглиозиды-гипотетические Д-серотонинореактивные структуры, неизвестно.

Агонисты серотонина чаще всего отличаются от его антагонистов наличием двух-трех алкильных или арильных заместителей у атомов азота (индольного или основного), углеродов соседних с атомами азота или в пятом положении индольного ядра. Остается неясным, имеет ли значение в данном случае способность дополнительных заместителей усиливать гидрофобное взаимодействие между веществом и реактивной структурой или уменьшать способность образовывать водородные связи и ослаблять ионное взаимодействие вследствие стерических препятствий к оптимальному сближению ионизированных участков реагирующих молекул. Не исключено, что углеводородные заместители могут механически препятствовать открытию каналов в мембране или проникновению в них ионов.

#### § 7. Фармакологическая характеристика серотонинореактивных структур вегетативных ганглиев. Агонисты и антагонисты серотонина М-типа

Серотонинореактивные структуры симпатических и парасимпатических ганглиев мало чувствительны к LSD-25, метисергиду, дибензилину, дибенамину, BAS. Первым веществом, для которого была доказана способность избирательно блокировать ганглиостимулирующие эффекты серотонина, явился морфин. При концентрациях морфина  $1 \cdot 10^{-9}$ — $1 \cdot 10^{-8}$  г/мл его антагонизм с серотонином носит конкурентный характер, при использовании больших концентраций морфина проявляются другие его свойства, мешающие в ряде случаев выяснению характера антагонизма. В условиях целого организма морфин блокирует серотонинореактивные структуры ганглиев при введении его в кровоснабжающие их сосуды в дозах 20—200 мкг. Ганглиостимулирующие эффекты Н-холиномиметиков, гистамина, хлорида калия при этом не изменяются. Серотонинореактивные структуры, проявляющие малую чувствительность к производным лизергиновой кислоты, но блокируемые морфином, были названы М-серотонинореактивными структурами. М-антисеротони-



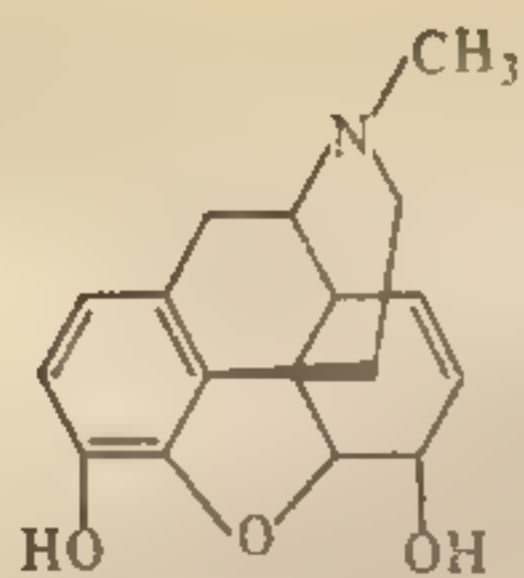
новыми свойствами обладают все ненаркотические анальгетики: дигидроморфин в этом отношении в 10 раз превосходит морфин; фенадон равен морфину по активности, а промедол несколько уступает последним. М-антисеротониновая активность атропина составляет приблизительно  $1/10$  таковой морфина. Характер антагонизма остается неясным. Анестетики новокаин и лигнокаин избирательно угнетают ганглиостимулирующие эффекты серотонина в концентрациях  $1-5 \cdot 10^{-6}$  г/мл, кокаин —  $4 \cdot 10^{-7}-2 \cdot 10^{-6}$ , совкаин —  $1-5 \cdot 10^{-7}$  г/мл. М-антисеротониновые свойства проявляют адреналин и изадрин при введении их в сосуды ганглия в дозах 10—40 мкг/кг, гидразиды (тубазид, ипразид, бетамизид в дозах 100 мг/кг внутривенно), производные фенотиазина (аминазин, хлорацизин, диксиразин в дозах 1—5 мг/кг внутривенно).

Ароматические производные гуанидина и бигуанида (фенилбигуанид, бензилгуанидин и др.) при введении в сосуды ганглиев в дозах 1—40 мкг/кг кратковременно возбуждают серотонинореактивные структуры, затем следует короткий (1—2 мин) период, в течение которого ганглий не реагирует на серотонин, реакция на Н-холиномиметики при этом сохраняется.

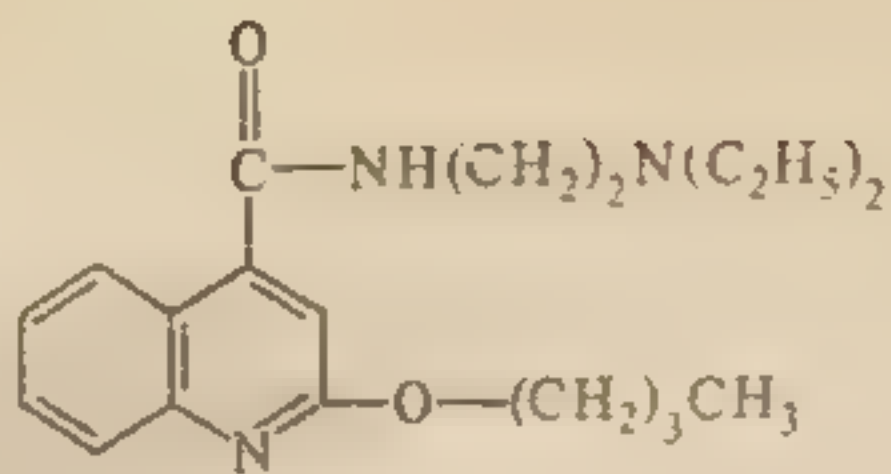
Производные 5-окситриптамина, имеющие метильные заместители при азоте боковой цепи, отличаются от серотонина несколько большей ганглиостимулирующей активностью в основном за счет присоединения Н-холиномиметических свойств и способностью кратковременно блокировать реакции ганглия на серотонин без соответствующего угнетения реакций на Н-холиномиметики (Gyergbek, 1966). Замещение водородных атомов при азоте боковой цепи триптамина на этильные радикалы приводит к усилению М-антисеротониновой активности. Наиболее выраженные М-антисеротониновые свойства описаны у четвертичных солей окситриптамина, азот боковой цепи которых имеет помимо двух метильных заместителей бензильную или м-хлорбензильную группу. Так, м-хлорбензилбуфотенидина бромид блокирует М-структуру при введении в сосуды ганглия в дозе 4 мкг/кг. Наличие оксигруппы в пятом положении индольного ядра повышает способность веществ взаимодействовать с М-структурами. Переход от 5-окситриптамина к 5-метокситриптину (мексамину) практически лишает вещества способности взаимодействовать с М-структурами (Gyergbek, 1966; И. Н. Пидевич, 1977). Амидиновые производные индола (например, 5-окси-3-индол-ацетамидин) возбуждают, а затем на несколько минут избирательно блокируют М-серотонинореактивные структуры ганглиев. Слабыми М-антисеротониновыми свойствами обладают гармин и грамин. Среди диметиламиноэтиловых эфиров индолкарбоновых кислот наиболее активным блокатором М-структур являются те производные, водород при индольном азоте которых замещен на бензильный радикал (вещество К-277, индокарб). Однако их антисеротониновая активность в 20—100 раз уступает таковой морфина.

Ниже приведены формулы некоторых наиболее активных агонистов и антагонистов серотонина М-типа:

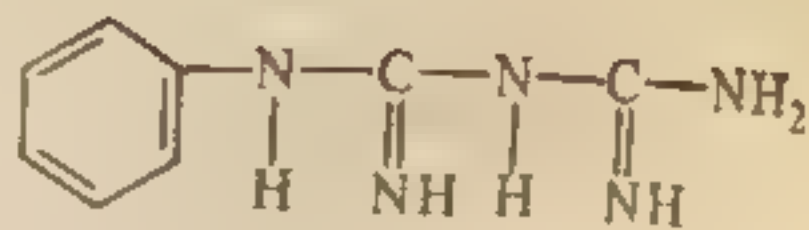




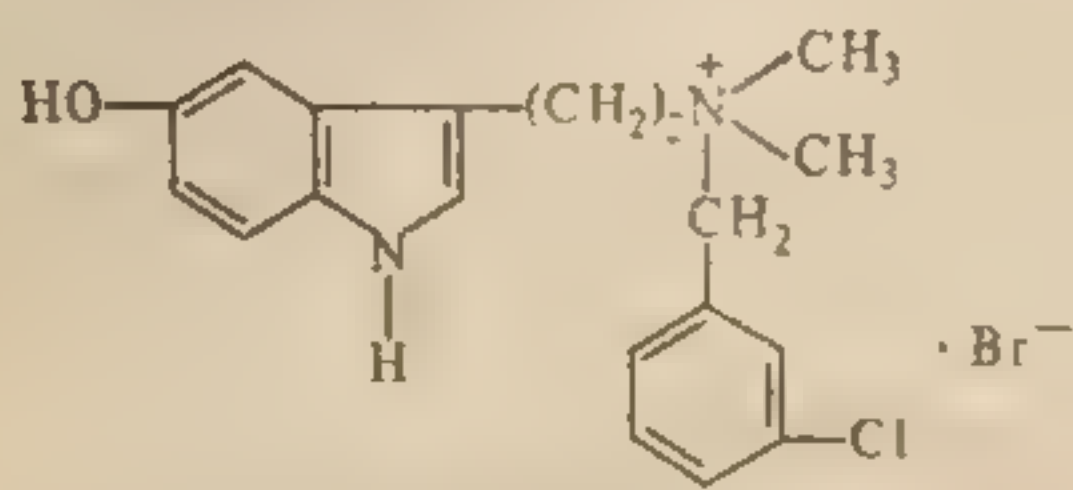
морфин



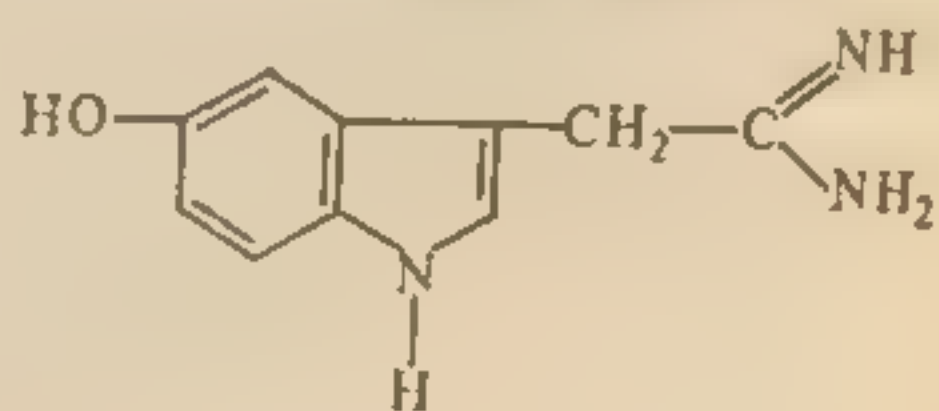
совкаин



фенилбигуанид



4-хлорбензилбуфотенидина бромид



5-окси-3-индолацетамидин

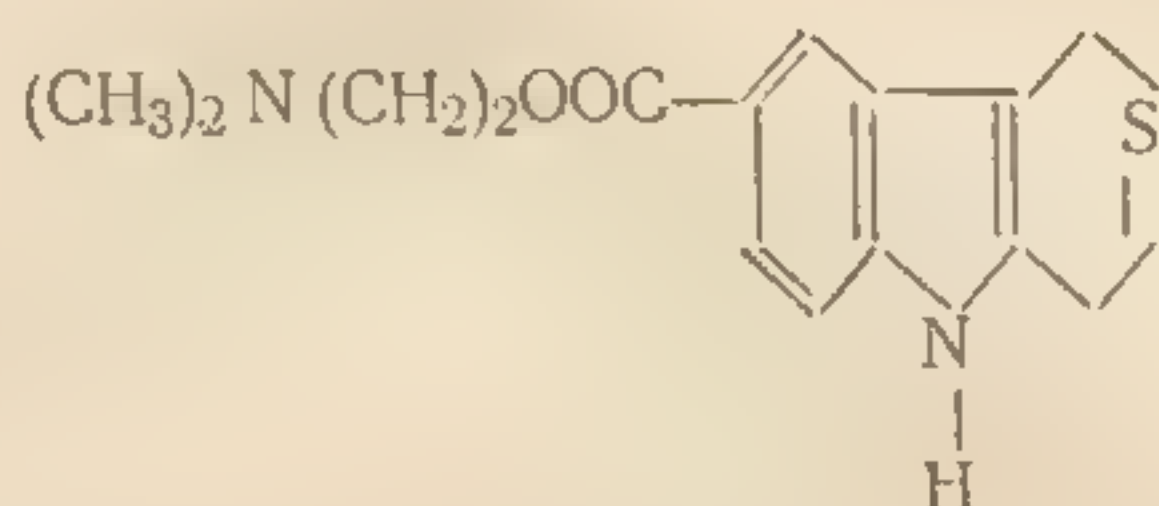
Итак, как и в случае веществ, взаимодействующих с Д-структурами, все агонисты и антагонисты серотонина М-типа содержат ароматическое (не обязательно индольное) ядро, основную группировку, ионизированную при физиологических рН. Вещества с исключительно блокирующим действием отличаются от способных стимулировать М-структуры наличием нескольких гидрофобных заместителей при основной группировке. Сопоставление активности 5- и 4-окси, а также 5-метокситриптамина дает основание предполагать, что оксигруппа серотонина играет большую роль в его взаимодействии с М-, чем с Д-структурами. Молекулярные отличия структур М-типа от структур Д-типа остаются неясными. Попытки выделить М-серотонинореактивные структуры ганглиев до сих пор не проводились.

#### § 8. Фармакологическая характеристика серотонинореактивных структур сердечно-легочной рефлексогенной зоны. Агонисты и антагонисты серотонина Т-типа

Рефлекторные брадикардия, гипотензия и остановка дыхания, возникающие у кошек при внутривенном введении серотонина, не уменьшаются, а, как и многие другие рефлекторные реакции, усиливаются производными лизергиновой кислоты в дозах, в которых эти производные блокируют миотропные эффекты серотонина. Дигидроэрготоксин также не угнетает рефлексы на серотонин. Морфин и промедол в дозах 1—2 мг/кг (внутривенно), в которых эти анальгетики блокируют ганглионарные эффекты серотонина, не оказывают определенного влияния на вызванные серотином хеморефлексы. На основании этих данных И. Н. Пидевич (1962) пришла к выводу, что структуры, ответственные за возникновение хеморефлексов с рецепторов сердца и легких у кошек, отличаются по чувствительности к блокирующим агентам от серотонинореактивных



ных структур Д- и М-типа. В поисках веществ, способных блокировать хеморефлексы на серотонин, был синтезирован типиндол — конкурентный антагонист, угнетающий «серотониновые» хеморефлексы, начиная с доз 0,3—0,5 мг/кг:



В этих дозах типиндол не влияет на Д- и М-серотонинореактивные структуры (по Д- и М-антисеротониновой активности типиндол уступает *LSD-25* и морфину в опытах на изолированных органах в 500—1000 раз). По способности вызывать хеморефлексы с рецепторов сердца и легких серотонин значительно превосходит другие известные эндогенные вещества. Катехоламины и ацетилхолин вызывают у кошек очень слабую и непостоянную рефлекторную брадикардию; гистамин и брадикинин подобных реакций не вызывают. Эти факты, а также неспособность типиндола в дозах, в которых он угнетает хеморефлексы на серотонин, уменьшать какие-либо реакции на  $\alpha$ - и  $\beta$ -адрено-, М- и Н-холиномиметики, кинины, гистамин, свидетельствуют о непричастности адрено-, холино-, гистамино- и кининореактивных структур к происхождению коронарного, депрессорного и дыхательного легочных хеморефлексов на серотонин и позволяют охарактеризовать соответствующие реактивные структуры как серотонинореактивные. Серотонинореактивные структуры, проявляющие значительную резистентность к *LSD-25* и морфину, но высокочувствительные к типиндолу, были названы Т-серотонинореактивными структурами (И. Н. Пидевич, 1965, 1977).

Новокаин, дикаин и новокаиамид в дозах соответственно 0,25—0,5 мг/кг, 1 мг/кг и 1—2 мг/кг (внутривенно) угнетают хеморефлексы на серотонин с рецепторов сердца и легких в их афферентном звене. Не исключено, что это действие объясняется блокадой Т-серотонинореактивных структур. При увеличении доз веществ их депримирующий эффект обусловлен и влиянием на центральные и афферентные звенья рефлексов, что мешает выяснению характера антагонизма в афферентном звене. Во всяком случае угнетающее влияние новокаина, дикаина и новокаиамида в малых дозах не связано с их анестезирующими свойствами, так как более сильные анестетики совкаин, ксикаин и тримекаин в дозах 1—2 мг/кг внутривенно не влияют на хеморефлексы, вызванные серотонином.

При изучении зависимости между строением и Т-антисеротониновой активностью ряда производных типиндола было показано, что для взаимодействия с Т-структурами наличие в молекуле атома серы не существенно. Все Т-антагонисты должны содержать основ-

ную группу: замена в боковой цепи группы  $\text{—N} \begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$  на  $\text{HC} \begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$



приводит к исчезновению антисеротониновой активности. Переход от типиндола к его четвертичному аналогу, полностью ионизированному при любых рН среды, резко усиливает Т-антисеротониновые свойства. Можно думать поэтому, что Т-антагонисты взаимодействуют с Т-серотонинореактивными структурами в протонированной форме и что Т-рецептор содержит анионный участок. Переход от производных индола к соответствующим кислородным изостерам — производным бензофурана снижает Т-антисеротониновые свойства веществ. Остается неясным, является ли это результатом меньших электронодонорных свойств бензофуранов, меньшего суммарного заряда кислорода бензофурана по сравнению с атомом азота индола или неспособностью ядра бензофурана быть донором водородной связи.

Такие Д- или М-антагонисты серотонина, как ципрогептадин, аминазин, атропин, блокируют все или некоторые проявления хеморефлексов на серотонин не за счет влияния на Т-структуры, а за счет угнетения центральных или эфферентных звеньев рефлексов.

Истинными агонистами серотонина в отношении структур Т-типа являются, как и в случае М-структур, ароматические производные гуанидина и бигуанида. По способности вызывать хеморефлексы  $\alpha$ -нафтилбигуанид превосходит серотонин. Мексамин — агонист серотонина по действию на Д-структуры не возбуждает Т-структуры в дозах, в 100 раз превосходящих таковые для серотонина. Вератрин, хотя и вызывает брадикардию, гипотензию и остановку дыхания с рецепторов сердца и легких, отличается от серотонина по первичному механизму действия — не возбуждает Т-структуры.

#### § 9. Влияние антагонистов Д-, М- и Т-типа на центральные эффекты серотонина

*LSD-25* и метисергид предупреждают действие серотонина на экстензорный моносинаптический рефлекс, угнетают противосудорожное действие 5-окситриптофана, гипо- и гипертермические эффекты серотонина и 5-окситриптофана; серотонин и *LSD-25* являются антагонистами по действию на олигодендроглию. При ионофоретическом подведении серотонина и *LSD-25* к одиночным нейронам мозга антагонистические отношения до сих пор удалось отметить лишь в случаях, когда ответ нейронов на серотонин является возбуждающим (нейроны сетчатого образования ствола и среднего мозга, некоторых ядер шва моста и нижней области среднего мозга). В мозге, очевидно, есть структуры идентичные или близкие Д-серотонинореактивным структурам.

В областях, обильно снабженных серотонинергическими терминалями, таких, как вентральные боковые коленчатые тела и миндалина, серотонин угнетает активность нейронов; *LSD-25* — его слабый агонист. Итак, в центральной нервной системе, безусловно, есть серотонинореактивные структуры, отличные от Д-серотонинореактивных структур. В отношении синтезирующих серотонин и



угнетаемых им нейронов шва *LSD-25* — очень сильный агонист серотонина.

Морфин избирательно угнетает депримирующий эффект серотонина на рефлекторные ответы в симпатических нервах, потенцирующий эффект серотонина в отношении рефлекторного апноэ, вызванного раздражением верхних дыхательных путей. Таким образом, не исключено, что в мозге есть М-серотонинореактивные структуры. Практически не изучено влияние морфина на реакции, индуцируемые серотином, введенным ионофоретически.

Описан ряд центральных эффектов серотонина, которые угнетаются как антагонистами Д-, так и М-типа. К таким эффектам относятся подавление серотином двигательной активности, некоторых условных рефлексов, седативный эффект, «серотониновые» рвота и гиперкинезы, изменения ЭЭГ. А. П. Гилев (1970) считает, что в некоторых из этих случаев речь может идти о серотонинореактивных структурах мозга, отличающихся от периферических тем, что они равно чувствительны к антагонистам Д- и М-типа.

Вопрос о влиянии типиндола на центральные эффекты серотонина практически не изучен. Есть лишь данные о его способности угнетать некоторые гиперкинезы, вызванные 5-окситриптофаном, и эффект серотонина на рефлекторные ответы в симпатических нервах.

## § 10. Применение антагонистов серотонина с терапевтической целью

Применение антагонистов серотонина с терапевтической целью показано при всех заболеваниях, в патогенезе которых серотонин играет неблагоприятную роль. В качестве антагонистов серотонина относительно широкое применение нашли лишь два блокатора Д-структур: метисергид и ципрогептадин; в последние годы начали использовать также цинансерин, пизотифен, лизенил. К сожалению, до сих пор не применяются в качестве антагонистов серотонина блокаторы серотонинореактивных структур М- и Т-типа.

Метисергид (6—24 мг в день подкожно или внутривенно) и ципрогептадин (6—75 мг в день внутривенно) купируют спазмы пищевода и диарею при карциноидном синдроме. Сосудистые проявления болезни эти препараты не облегчают, что пытаются объяснить либо не причастностью серотонина к происхождению сосудистых реакций, либо заинтересованностью в данном случае серотонинореактивных структур, отличных от структур Д-типа. Метисергид (1—2 мг в день) и особенно ципрогептадин (4—32 мг в день), обладающий кроме антисеротониновых антигистаминовыми и антибрадикининными свойствами, эффективны при аллергическом рините, некоторых формах бронхиальной астмы, при аллергических поражениях кожи. При ревматических артритах, тендовагинитах и бурситах противовоспалительный эффект удается вызвать введением метисергида в полость сустава, периартикулярно и внутримышечно.

Приступы мигрени облегчают как сам серотонин, так и метисергид, ципрогептадин, цинансерин. Причина положительного эффекта этих средств не ясна. Не исключено, что в данном случае важны не их антагонистические отношения с серотином, а то, что они являются его агонистами по восприимчивости к влиянию на некоторые сосуды головы. Кроме того, метисергид был успешно применен при болезни Рейно, склеродермии и вызванном гипертиреозом экзоптофальме; лизенил — при дисменорее, предменструальном синдроме, климактерических расстройствах и в некоторых случаях в целях предупреждения привычных выкидышей у женщин с нарушением функции подбугорной области мозга.



При лечении метисергидом ■ ципрогептадином может возникать целый ряд осложнений. Так, метисергид при непродолжительном использовании иногда вызывает (чаще у больных аллергическими заболеваниями) тошноту, рвоту, головокружения, спазмы сосудов сетчатки, конечностей, сыпи, поносы, атаксию. Эти осложнения исчезают при снижении дозы препарата или его отмене. При длительном приеме метисергида может развиваться забрюшинный, сердечный и легочный фиброз. Это грозное осложнение иногда требует оперативного вмешательства. Побочное действие ципрогептадина может проявляться чувством усталости, понижением внимания, болями в сердце, кожными сыпями. Некоторые осложнения и противопоказания к приему ципрогептадина обусловлены его слабыми М-холинолитическими свойствами.

## ГЛАВА 6

### КИНИНЫ

В 1949 г. было обнаружено Rocha и Silva физиологически активное вещество неизвестной природы. В крови собак, взятой сразу после внутривенного введения трипсина или змеиного яда, возникла субстанция, отличная от гистамина и ацетилхолина. Новое вещество обладало гипотензивным действием и способностью медленно сокращать отрезок кишки морской свинки. Именно это последнее обстоятельство дало повод назвать вещество «брадикинин» («медленно сокращающий»).

Последующие работы европейских и американских ученых выявили полипептидную природу брадикинина, его высокую ■ специфическую активность в отношении сосудистых и экстравазальных гладких мышц, способность резко увеличивать тканевую проницаемость. Обнаружена также биохимическая связь брадикинина с калликреином — ферментом, открытым еще в начале тридцатых годов немецкими учеными Kraut, Frey, Werle (1932).

Дальнейшие исследования, посвященные очистке, выявлению структуры и фармакологических особенностей брадикинина, калликреина и родственных им компонентов, привели к формированию представления о существовании ■ организме принципиально новой биологически активной калликреин-кининовой системы.

#### § 1. Биохимия калликреин-кининовой системы

Характеристике брадикинина и других кининов много десятилетий сопутствует неверное наименование «тканевые», или «локальные гормоны». Кинины не являются продуктами секреции специальных желез, и их функция в организме существенно отличается от таковой гормонов.

Образованию кининов в крови предшествует цепь биохимических реакций, которые можно представить в виде схемы (схема 5):

тканевые  
калликреины

кининоген

Обозначения

← активирующее (или)

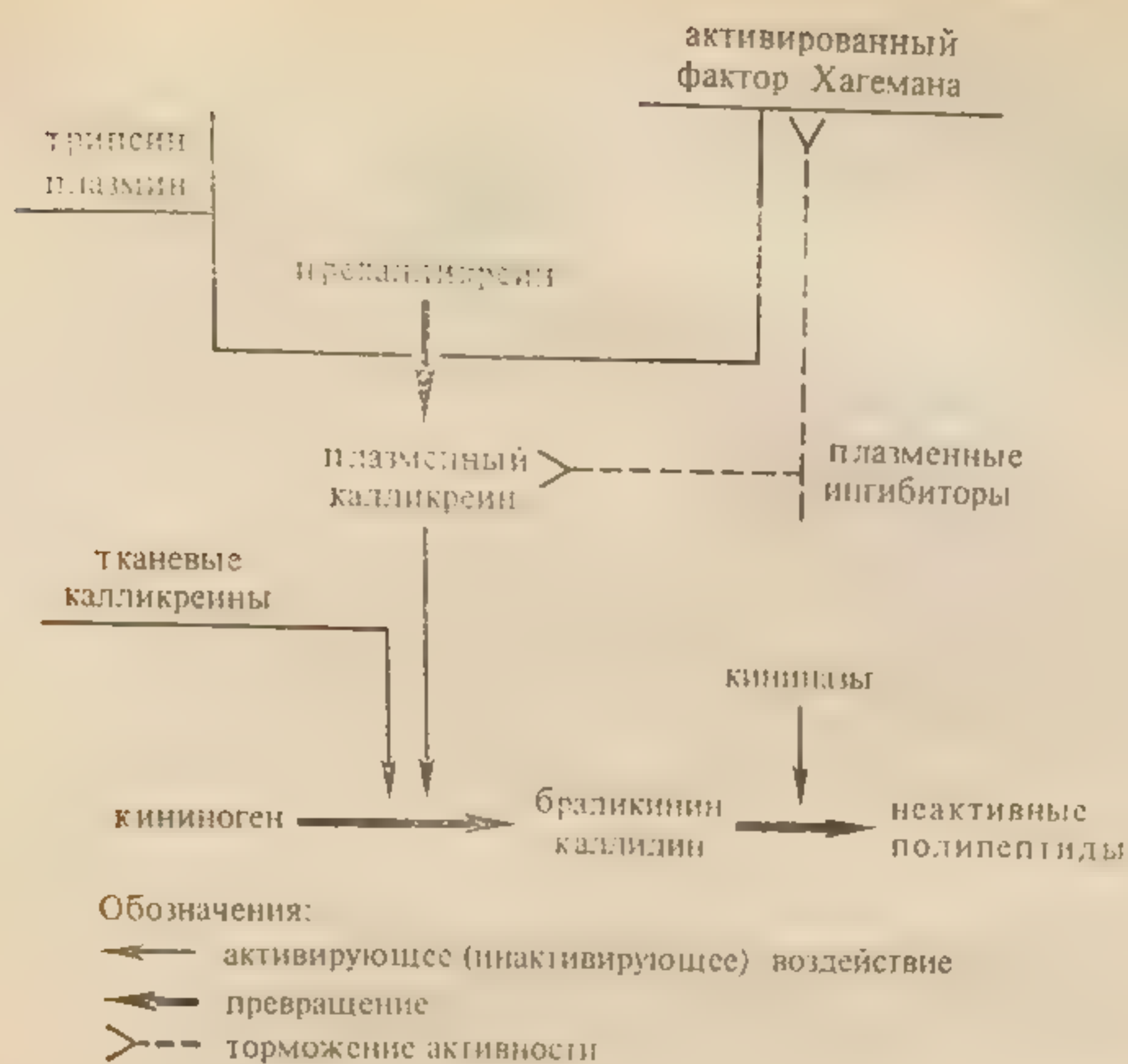
← превращение

>— торможение активн

Кинины образуются из неактивных кининогенов под влиянием фермента калликреина, который превращается в активную форму под влиянием фактора Хагемана. Эти вещества постоянно находятся в крови и в нужный момент и нужной концентрации могут также возникать из тканевых ферментов, локализованных в слизистой оболочке желудка и слюнной железе. Важной особенностью калликреина является принцип взаимодополнения. Такая структура калликреина позволяет ему образовывать активные субстанции на разных этапах: а) быстрое образование активной субстанции на определенной зоне кровотока; б) образование активной субстанции в других системах с другими калликреинами. Важно отметить, что факторы Хагемана (α-2-макроглобулин-III) участвуют в регуляции активности калликреина, представляя собой матрицу, в рамках которой происходит образование кининов.



Схема 5



Кинины образуются из неактивного предшественника кининогена под влиянием фермента калликреина. Последний, в свою очередь, превращается в активную форму из проэнзима при действии активированного фактора Хагемана (XII-фактора свертывания крови). Все эти вещества постоянно находятся в плазме крови, активируясь в нужный момент и в нужной зоне сосудистого русла. Образование кининов может также возникать под влиянием тканевых калликреиновых ферментов, локализованных в виде гранул в почках, поджелудочной и слюнной железах. Речь идет, таким образом, о существовании целой системы, состоящей из связанных биохимических звеньев. Важной особенностью организации этой системы является каскадный принцип взаимодействия с чередованием неактивных, активированных (активирующих) и тормозящих активность компонентов. Такая структура калликреин-кининовой системы обеспечивает: а) быстрое образование значительных количеств физиологически активной субстанции — кинина; б) контроль кининообразования на разных этапах; в) ограничение процесса кининообразования определенной зоной кровообращения; г) взаимодействие кининовой системы с другими системами регуляции крови и гемодинамики.

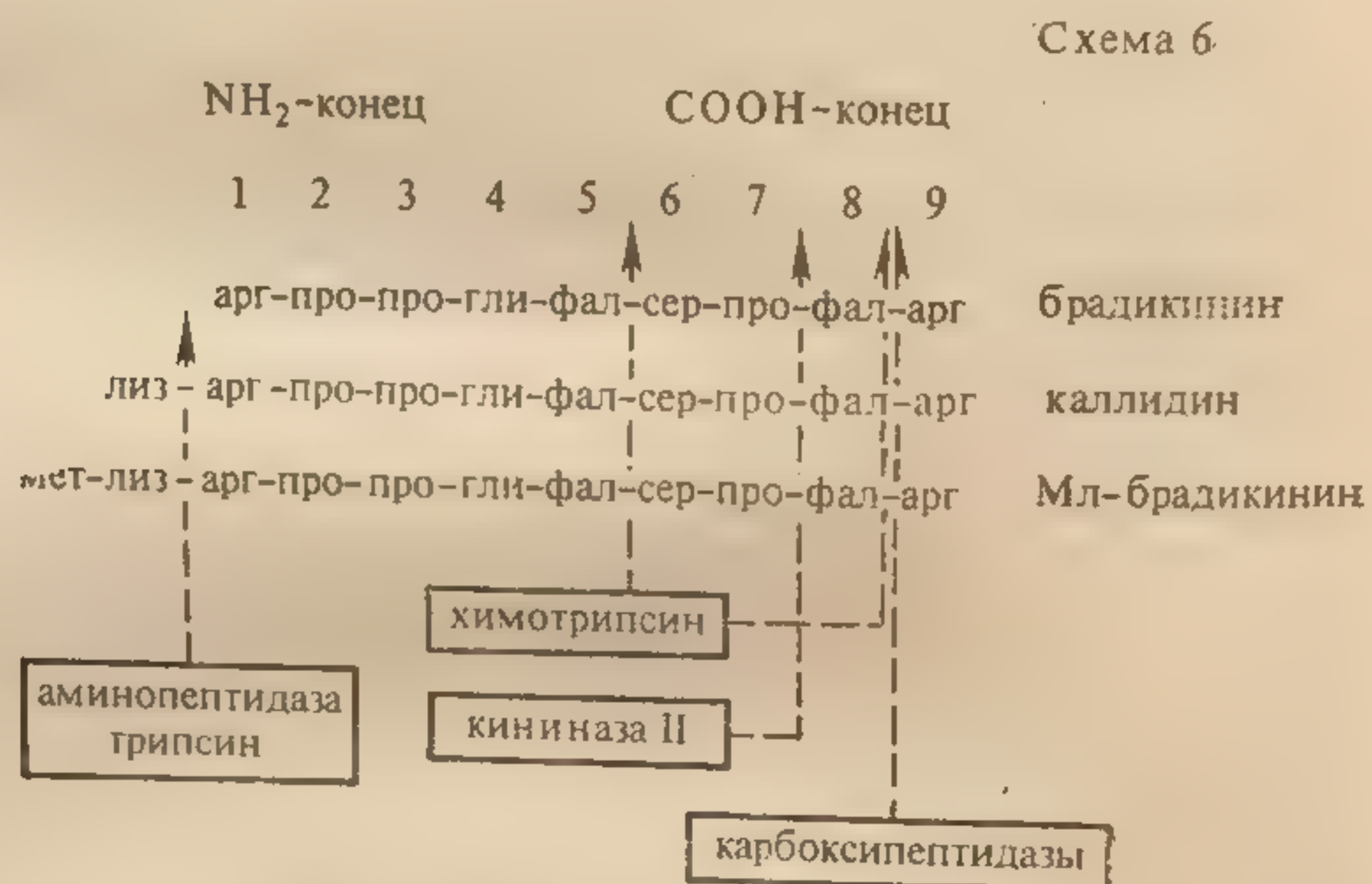
Важно отметить, что фактор Хагемана и природные ингибиторы калликреина ( $\alpha$ -2-макроглобулин, С1-эстеразный ингибитор, анти-тромбин-III) участвуют в регуляции активности двух других систем крови — свертывающей и фибринолитической. Согласно современным представлениям, калликреин-кининовую систему следует рассматривать в структурной и функциональной связи с этими системами в рамках единой «системы фактора Хагемана».



**Брадикинин и родственные кинины.** В результате исследований Elliot, Lewis, Horton в 1960 г. и Boissonnass et al. (1961) установлено, что брадикинин представляет собой нонапептид.

Изучение химической структуры брадикинина (Meirose et al., 1970) показало, что этот полипептид имеет активные группы, сходные с гистамином: на конце пептидной цепи и в центре имеются группировки, важные для проявления биологической активности молекулы. Так, устранение любого из двух аргининов, находящихся на N- и C-концах полипептидной молекулы, ведет к снижению биологической активности брадикинина в 100 раз. Было высказано предположение о возможных конформациях молекулы брадикинина в различных условиях, которые приводят к формированию циклической формы.

Несколько лет спустя после открытия брадикинина из плазмы крови человека и сыворотки быка был получен каллидин — десятичленный кининовый пептид, а еще позднее третий аналог — метиониллизилбрадикинин (их структура и места действия кининразрушающих ферментов представлены на схеме 6):



Все три природных кинина имеют сходные биологические свойства, однако с увеличением молекулярной массы кининов меняется количественное соотношение их активности. Сравнение эффектов на отрезке подвздошной кишки морской свинки или на препарате матки крысы показало, что брадикинин > каллидин > метиониллизилбрадикинин > синтетический гли-арг-мет-лиз-брадикинин, а при изучении гипотензивных реакций и кожной сосудистой проницаемости соотношение активности было строго обратным. Таким образом, с увеличением молекулы кинина возрастает его активность в отношении сосудов и, наоборот, снижается в отношении экстравазальных гладких мышц.

Исследовано несколько десятков синтезированных аналогов брадикинина для выявления зависимости между структурой и дейст-



внем полипептидов. На схеме 6 показаны «уязвимые» места кининовой молекулы и ферменты, разрывающие эти связи. Более тяжелые аналоги брадикинина медленнее расщепляются кининазами крови и тканей и, вероятно, поэтому имеют более выраженное гипотензивное действие.

Наиболее чувствительные современные методы выявляют содержание в крови человека ничтожных количеств брадикинина (0,1—1,2 нг в 1 мл венозной крови при определении радиоиммунным способом).

Несмотря на то что при некоторых физиологических и патологических состояниях в крови образуются значительные количества полипептида, его активность строго регламентируется целым набором плазменных и тканевых кининразрушающих ферментов. В большем количестве кинины обнаруживаются в моче, куда они поступают после активации почечным калликреином.

Кинины или сходные полипептиды находят значительное распространение у низкоорганизованных биологических видов. В коже обыкновенной прудовой лягушки обнаруживается до 250 мкг/г брадикинина. Гли-брадикинин и гли-лиз-брадикинин входят в состав ядов некоторых видов ос и пчел. Следует, однако, заметить, что в структуре этих двух нонапептидов прослеживается иная аминокислотная последовательность, чем у брадикинина.

Полученный из кожи южноамериканских лягушек физалемин в 5—40 раз активнее брадикинина при тестировании на кишке морской свинки и в 15—25 раз при изучении гипотензивного действия. Другой полипептид — эледоизин, выделенный из слюны осьминога и желез моллюсков семейства *Eledone* также значительно превышает эффективность брадикинина.

## § 2. Физиологическая роль калликреин-кининовой системы

Рассмотрение биохимических особенностей компонентов кининовой системы и ее структурно-функциональных связей с другими системами крови — основа современного представления о физиологической роли кининовой системы. Схема 7 иллюстрирует ее влияние на гемососудистую систему.

С одной стороны, калликреин-кининовая система функционирует в едином биохимическом комплексе с системами фибринолиза и свертывания крови, которые существенным образом влияют на гемостаз, реологические свойства крови, а через эти факторы опосредованно на гемодинамическую характеристику кровотока. С другой стороны, брадикинин — физиологически активный компонент калликреиновой системы изменяет тонус гладкой мускулатуры сосудов и мембранную проницаемость в соответствии с биохимическим составом и жидкостной характеристикой крови. В этой корреляции важное место принадлежит пограничному эндотелиальному слою сосудистой стенки, содержащему активные факторы регуляции крови. Таким образом, калликреин — основной фермент, образую-



Схема 7



ший кинины, и, кроме того, служит модулятором активности общего для трех систем фактора Хагемана.

Спектр биологического действия кининов разнообразен: 1) сокращение гладкой мускулатуры бронхов, кишечника, матки; 2) влияние на систему кровообращения — расширение большинства артериальных сосудов, гипотензия, увеличение органного кровотока, констрикция сосудов отдельных областей, увеличение минутного объема сердца за счет функциональной перестройки гемодинамики; 3) увеличение сосудистой и клеточной проницаемости; 4) местная и центральная болевая реакция. В табл. 17 указаны пороговые дозы брадикинина, вызывающие основные фармакологические эффекты.

Характеризуя сосудистые реакции, следует отметить, что у человека и разных видов животных ответы на брадикинин могут значительно варьировать. Известно, что кинины вызывают гипотензию за счет дилатации основной части артериальных сосудов большого круга; считается также, что сосуды венозной части, наоборот, сокращаются под действием кининов. Однако в качестве аномальной особенности отмечаеся сокращение легочной артерии свиньи (изолированный препарат), коронарных артерий овцы и быка, церебральной и сонной артерии собаки, бедренной артерии морской свинки, пупочной артерии и вены человека. Расслабляются под действием брадикинина: *vena safena* человека, пупочная вена обезьяны, ушная артерия кролика. Не реагируют на кинины: аорта кролика и сонная артерия кошки. Эти некоторые примеры указывают на видовые и тканевые особенности сосудистых реакций, вызванных кининами. Отмеченная специфичность обусловлена, вероятно, не только типом строения вазальных тканей, но и различным характером рецепторных реакций на кинины.



Анализ работ, описывающих влияние брадикинина на сердечно-сосудистую систему, свидетельствует о вероятном его участии в регуляции центральной гемодинамики и, в частности, в механизме увеличенного сердечного выброса за счет повышения венозного возврата крови к правому желудочку. Изложенное представление о роли калликреин-кининовой системы как фактора гемососудистой

Таблица 17

| Тест-объект   | Эффект     | Пороговая доза             |
|---|------------|----------------------------|
| <i>in vitro</i>   |            |                            |
| Подвздошная кишка морской свинки                                | Сокращение | 1,0 нг/мл                  |
| Рог эстирующей матки крысы                                      | »          | 0,1—0,2 нг/мл              |
| Тошая кишка кошки   | »          | 0,05—0,1 нг/мл             |
| <i>in vivo</i>  |            |                            |
| Бронхиальная мускулатура морской свинки                         | Сокращение | 0,05—1,0 мкг/кг массы тела |
| Бронхиальная мускулатура человека, больного бронхиальной астмой | »          | 20—25 мкг/кг массы тела    |
| Капиллярная проницаемость, крыса                                | Увеличение | 1 нг/мл                    |
| Капиллярная проницаемость, морская свинка                       | Увеличение | 1 нг/мл                    |
| Висцеральная боль, подкожно                                     | —          | 0,1—1,0 мкг                |
| Центральная боль  | —          | 1—2 мкг                    |
| Артериальное давление, в/венно                                  | Понижение  | 1,0—2,0 мкг/кг             |
| Артериальное давление, в/аортально                              |            | 0,2—0,5 мкг/кг             |

регуляции позволяет объединить различные компоненты регулируемого взаимодействия систем гемостаза, сосудистой стенки, макро- и микрогемодинамики.

Рассматривая вопрос о реактивности к брадикинину различных клеток и тканей организма, можно выделить следующие варианты: а) расслабление большинства артериальных кровеносных сосудов (следствием чего является вызванная кининами гипотензия) и сокращение экстравазальных гладкомышечных образований (матка, бронхи, кишечник); б) дилатация артериол и констрикция венул (различные типы вазальной ткани); в) расслабление или сокращение клеток одних и тех же гладкомышечных тканей в зависимости от уровня обмена в них, функционального состояния, предшествующего действия фармакологических факторов. Эти примеры демонстрируют случаи, когда одно и то же вещество включает или, наоборот, исключает молекулярный актомиозиновый механизм сократительного процесса.



### § 3. Кинины и патофизиологические реакции организма

Изменение нормальной деятельности организма в условиях заболевания, расстройства метаболизма кининовой системы и нарушение баланса факторов гуморальной регуляции приводят к проявлению патофизиологических реакций кининов.

Вазомоторное действие кининов и возникающие как патологическое следствие расстройства регуляции сердечно-сосудистой системы могут иметь отношение к патогенезу инфаркта миокарда, шоков различного происхождения, карциноидных синдромов, ревоваскулярных заболеваний. Связанные с кининами изменения сосудистой проницаемости и нарушения микрогемодинамики являются важным звеном в патогенезе различных форм воспалительных процессов (панкреатиты, артриты, травмы), отеков, атеросклеротических изменений в стенках сосудов. Болевые эффекты кининов могут иметь значение для патогенеза инфаркта миокарда, сопровождают воспалительные реакции, возможно служат одной из причин ноцицептивных реакций в патологии нервной системы. Влияние кининов на экстравазальную гладкую мускулатуру может иметь важное патогенетическое значение в развитии синдрома бронхиальной астмы, патологий беременности, родов и др. Врожденные дефекты системы крови, когда отсутствует какой-либо из компонентов калликреин-кининовой системы, недостаточность факторов Флетчера, Флаяка, Фитцджеральда и др., сопровождают нарушения процессов нормального свертывания, лежат в основе развития различных типов тромбоза сосудов.

Можно думать, что для предупреждения или лечения указанных заболеваний определенную роль играет использование фармакологических средств, блокирующих или, наоборот, потенцирующих эффекты кининов. Выпускается ряд препаратов как с прокалликреиновым действием, т. е. увеличивающих выход брадикинина в организме (депоткалликреин, падутин, гордокс), так и тормозящих калликреиновую или кининовую активность (контрикал, тразилол, цалол, пиридонолкарбамат, пармидин и др.).

При рассмотрении ступенчатой структуры калликреин-кининовой системы можно понять, что регуляция физиологической активности конечного продукта — брадикинина — осуществляется на различных уровнях. Увеличение эффекта кининов может быть обусловлено повышенной активностью фактора Хагемана и калликреина, устранением тормозящего действия ингибиторов этих ферментов, снижением кининазной активности, увеличением реактивности кининовых структур клетки. Соответственно, изменение активности перечисленных компонентов в противоположную сторону приведет к ослаблению фармакологической эффективности кининов. Таким образом, при оценке фармакологических подходов в исследовании калликреин-кининовой системы следует иметь в виду не только са-тоненты, связанные с ее синтезом, распадом, т. е. всю систему в целом.

Рассматривая фак-  
частности, исследуя  
кренн-кининовой сис-  
ность калликреина и  
уровень кининогена),  
обратить особое вним  
тот физиологический  
где реализуется эффек  
кинина. Иначе говоря  
представление о прир  
менчивости и особ  
фармакологической ре  
клеточной биологическ  
ктуры (рецептора),  
определяет количестве  
качественную характе  
ответа на физиологичес  
тивное вещество, т. е.  
ном счете определяет  
ность данной ткани и  
гана.

Характер ответа на  
то же вещество может  
тельно меняться в зави  
от различных фактор  
рис. 20 показаны изме  
ной величины ответа н  
групп животных: 1) ко  
высотной гипоксии в ба  
ния у животных экспе  
чавших предварительн  
«Сандоз»). Учитывая  
кининов, препарат бра  
но. Полученные в эти  
ные гемодинамические  
зии становится больше  
ших предварительных  
ванных к гипоксии жи  
опытах учитывается, чт  
кининов — артериальн  
тельно, реактивность эт  
виями фармакологичес  
также в процессе ра  
анизме. Полученные резуль  
на  $\beta$ -адреноблокатором



#### § 4. Молекулярные механизмы действия кининов

Рассматривая факторы, определяющие действие кининов, и, в частности, исследуя динамику биохимических компонентов калликреин-кининовой системы (активация фактора Хагемана, активность калликреина и кининаз, уровень кининогена), следует обратить особое внимание на тот физиологический субстрат, где реализуется эффект брадикинина. Иначе говоря, иметь представление о природе, изменчивости и особенностях фармакологической регуляции клеточной биологической структуры (рецептора), которая определяет количественную и качественную характеристику ответа на физиологически активное вещество, т. е. в конечном счете определяет реактивность данной ткани или органа.

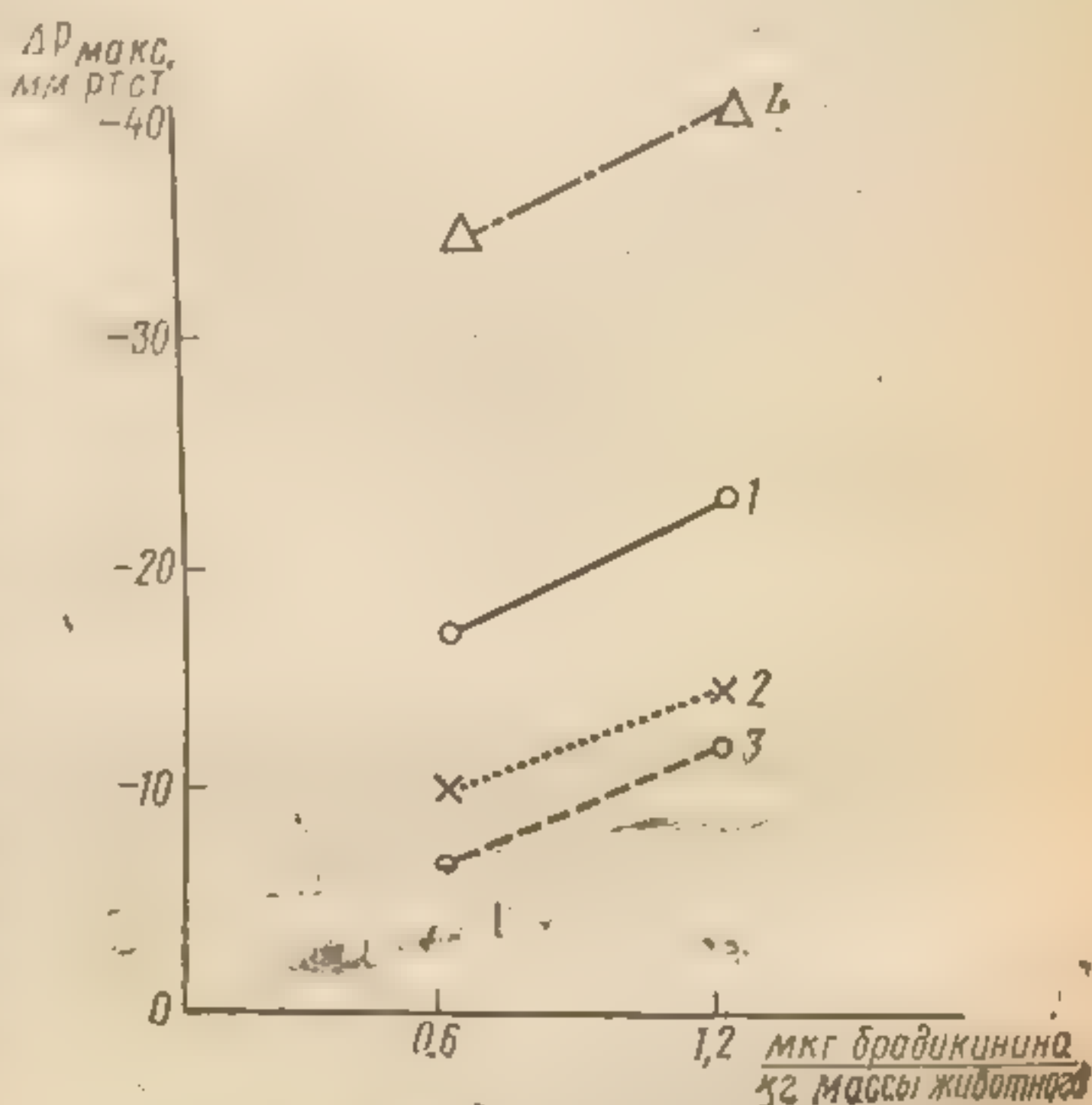


Рис. 20. Гипотензивный ответ на брадикинин у крыс

Характер ответа на одно и то же вещество может значительно меняться в зависимости от различных факторов. На рис. 20 показаны изменения сосудистой реактивности (максимальной величины ответа на экзогенный брадикинин) у различных групп животных: 1) контрольных крыс; 2) крыс, адаптированных к высотной гипоксии в барокамере; 3) через 1 ч после воспроизведения у животных экспериментального инфаркта миокарда; 4) получавших предварительно  $\beta$ -адреноблокатор вискен (ЛБ-46, фирма «Сандоз»). Учитывая значительную роль легких в превращении кининов, препарат брадикинина вводился крысам внутриаортально. Полученные в этих опытах результаты показывают различные гемодинамические реакции на брадикинин: величина гипотензии становится большей в сравнении с контролем у крыс, получавших предварительно вискен, и, наоборот, снижается у адаптированных к гипоксии животных и животных с инфарктом. В этих опытах учитывается, что основное место периферического действия кининов — артериолярное ложе сосудов большого круга. Следовательно, реактивность этих сосудов может быть изменена воздействиями фармакологического или физиологического характера, а также в процессе развития патологического процесса в организме.

Полученные результаты о потенцировании эффекта брадикинина  $\beta$ -адреноблокатором выглядят, на первый взгляд, парадоксаль-



но: речь идет об усилении гипотензивной сосудистой реакции, которую вызывал бы также  $\beta$ -адреномиметик изопротеренол, эффект которого был, однако, заблокирован «его» ингибитором — вискеном или индералом. И наоборот, как показывают контрольные эксперименты, блокада  $\alpha$ -адреноблокатором (тропафеном) действия адреналина — вещества противоположного прессорного характера не влияла на гипотензивный эффект кининов. Таким образом, в описанных случаях изменения гипотензивных реакций на брадикинин нельзя связать с высвобождением катехоламинов: усиление  $\beta$ -адреноблокатором ответа на брадикинин происходит, вероятно, на клеточном, рецепторном уровне.

Действие кининов на препараты гладких мышц может быть заблокировано ципрогептадином — ингибитором серотонина и гистамина. И в этом случае анализ показывает, что взаимодействие ципрогептадина и брадикинина реализуется на клеточно-рецепторном уровне. Все эти данные позволяют говорить о вероятной взаимосвязи кининовых рецепторов с рецепторными структурами других физиологически активных веществ.

Изучение химической структуры брадикинина и его активных аналогов позволяет уточнить роль определенных химических групп в молекуле, обеспечивающих комплементарную связь с соответствующими участками цитоплазматической мембраны. Исследования конформационных изменений молекулы брадикинина и его аналогов в различных физико-химических условиях подтверждают вероятное значение фенилаланинового остатка и N-концевого фрагмента арг-про-про-молекулы полипептида в начальной фазе рецепторной реакции. Reissmann et al. (1974) синтезировали более 30 аналогов брадикинина и исследовали их биологическую активность на различных тест-объектах. Выяснилось, что активность брадикинина зависит не только от наличия в его структуре гуанидных и фенильных групп, вступающих в связь с рецептором, но также и от удаленности этих групп от основной части пептида. Изучение аналогов брадикинина с ограниченной конформационной подвижностью дает необходимую информацию о структурных изменениях, которые претерпевает молекула кинина, соединяясь с рецептором. В результате взаимодействия с рецепторами кинины индуцируют ряд биохимических сдвигов в клетке. Они изменяют ионно-диффузионные свойства клеточной мембраны. Было показано, что брадикинин увеличивает высвобождение  $^{45}\text{Ca}$  микросомальной фракцией коронарных артерий. Этот эффект коррелировал с изменениями тонуса сосудов под влиянием брадикинина и ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .

При изучении действия брадикинина на проницаемость изолированной брыжейки крысы выявлена корреляция между увеличением проницаемости клеток и повышением содержания  $\alpha$ -АМФ в ткани. Подобным эффектом обладал также простагландин  $\text{E}_1$  (Kahn, Brachet, 1976). В инкубируемых срезах морской свинки обнаружено увеличение уровня  $\alpha$ -АМФ и  $\alpha$ -ГМФ под действием брадикинина (Stone et al., 1973). Данные циклические нуклеотиды могут выполнять роль вторичного передатчика действия кининов

различные функции в  
значения для опреде  
шение активности  
ством циклических нук  
ют прямое отношение к  
ных мембран и реализа  
хемизма.

Фармакологические эф  
также простагландины, кот  
из органов (легких, печени  
из изолированных клет  
данными согласуются нес  
уменьшение эффектов бра  
аспирина — ингибиторов с  
бавление к перфузируемым  
стагландинов — арахидонов  
экзогенный брадикинин.

Простагландины, вероятно  
которое переключает проце  
шечной клетки. Было обна  
рых простагландинов в арте  
только с блокадой вазодил  
с усилением констрикторно  
зина. На препаратах мезен  
ваемое брадикинином расш  
синтеза в клетках простагл  
ствие брадикинина на вену  
типа простагландина —  $\text{F}_{2\alpha}$

Простагландины —  $\text{F}_{2\alpha}$   
связанные с их влиянием на  
 $\text{E}_2$  и арахидоновая кислота  
увеличение сосудистой про  
Кинины обладают также  
ленная брадикинином более  
вотному простагландинов г  
стагландином  $\text{F}_{2\alpha}$ . Таким о  
стагландины можно рассма  
универсального биохимичес  
ного сигнала кининов в клет

§ 5. Вещества, регу  
активн

Торможение эффектов б  
догено образующегося н  
существуются по след  
ванием кининов



на различные функции эффекторных клеток. Вероятно, решающее значение для определения конечной реакции клетки имеет соотношение активностей систем  $\text{ц-АМФ/ц-ГМФ}$ . Активируемые под действием циклических нуклеотидов протеинкиназные комплексы имеют прямое отношение к изменению ионного баланса внутриклеточных мембран и реализации сократительного актомиозинового механизма.

Фармакологические эффекты брадикинина могут опосредовать также простагландины, которые высвобождаются из клеток различных органов (легких, почек, сердца, мезентерия, селезенки), а также из изолированных клеток и тканей при его действии. С этими данными согласуются исследования другого рода: обнаружено уменьшение эффектов брадикинина под влиянием индометацина и аспирина — ингибиторов синтеза простагландинов. И наоборот, добавление к перфузируемым органам предшественника синтеза простагландинов — арахидоновой кислоты — увеличивало ответы на экзогенный брадикинин.

Простагландины, вероятно, то существенное регуляторное звено, которое переключает процессы сокращения или расслабления мышечной клетки. Было обнаружено, что торможение синтеза некоторых простагландинов в артериолах мезентерия крысы совпадает не только с блокадой вазодилаторного действия брадикинина, но и с усилением констрикторного действия норадреналина и ангиотензина. На препаратах мезентерия крысы было показано, что вызываемое брадикинином расширение артериол связано с увеличением синтеза в клетках простагландинов группы Е. Констрикторное действие брадикинина на вены сопровождается синтезом другого типа простагландина —  $\text{F}_{2\alpha}$ .

Простагландины опосредуют также эффекты брадикинина, не связанные с их влиянием на гладкую мускулатуру. Простагландины  $\text{E}_2$  и арахидоновая кислота потенцируют вызванное брадикинином увеличение сосудистой проницаемости кожи кроликов.

Кинины обладают также ноцицептивным действием. Обусловленная брадикинином болевая реакция усиливается введением животному простагландинов группы Е и, наоборот, ослабляется простагландином  $\text{F}_{2\alpha}$ . Таким образом, циклические нуклеотиды и простагландины можно рассматривать в качестве важного элемента универсального биохимического механизма реализации регуляторного сигнала кининов в клетке.

## § 5. Вещества, регулирующие фармакологическую активность брадикинина

**Торможение эффектов брадикинина.** Торможение эффектов эндогенно образующегося или введенного извне брадикинина может осуществляться по следующим основным механизмам: а) блокированием кинин-высвобождающих ферментов; б) при непосредствен-



ном связывании молекулы кинина специфическими антителами; в) изменением взаимодействия полипептида с рецепторной субстанцией; г) высвобождением других медиаторных веществ, способных модулировать эффект брадикинина.

В настоящее время нет фармакологических средств, которые обладали бы только антикалликреиновой активностью. Исключение составляют антитела к калликреину. Иммунохимические исследования позволили также найти способ получения антител, специфичных в отношении брадикинина. Антитела были получены из сыворотки кроликов, иммунизированных комплексом брадикинин-овальбумин. Антисыворотка связывала синтетический брадикинин, тормозила гипотензивную реакцию в экспериментах на крысах и защищала брадикинин от гидролиза кининазами. Антисыворотка не влияла на ангиотензин II и вазопрессин.

**Полипептидные аналоги брадикинина.** Исследовано соотношение биологической активности и кининтормозящего действия многих полипептидов, синтезированных на структурной основе брадикинина. В частности, 1-дезоксиг-6-треонил-8-лейцилбрадикинин и 2, 3, 7-пропилбрадикинин, сохранявшие лишь 1/200 000 часть активности брадикинина, тормозили его действие *in vitro*. Однако тормозящее действие, исследованное на гладкомышечных препаратах и по изменению капиллярной проницаемости, как правило, не совпадали. Кроме того, рабочие концентрации полипептидных аналогов были большими в сравнении с таковыми для брадикинина.

**Производные ацетилсалициловой кислоты.** Обнаружено, что введенная внутривенно ацетилсалициловая кислота устраняет бронхоспазм, вызванный у морской свинки брадикинином. Подобный эффект, обусловленный серотонином, гистамином, ацетилхолином или эледиозином, оставался неизменным. Эти работы были продолжены на различных тест-объектах. Из табл. 18 следует, что кинин-блокирующее действие ацетилсалициловой кислоты проявляется преимущественно на целом животном; эксперименты с изолированными гладкомышечными препаратами дали отрицательные результаты. Величину гипотензивного ответа на брадикинин салицилаты не меняют, однако значительно укорачивается время восстановления исходного уровня давления. Однозначные результаты были получены с дериватами анилинбензойной кислоты, среди которых есть препараты противовоспалительного и антинеуралгического характера.

**Фенилбутазон.** Фенилбутазон влияет практически на все эффекты брадикинина. Блокируя бронхоспастическое действие брадикинина, фенилбутазон не влияет на эффекты гистамина, серотонина, ацетилхолина и эледиозина.

Фенилбутазон тормозит также воспалительные реакции, связанные с активацией калликреина. Предварительная инъекция фенилбутазона снимает болевую реакцию, обусловленную введением брадикинина в желудочки мозга.

**Стероидные препараты.** Гидрокортизон, преднизолон, кортизол и другие стероидные препараты с противовоспалительным действием

|                           |   |
|---------------------------|---|
| Салициловая кислота       | — |
| Ацетилсалициловая кислота | — |
| Фенфенамино-вая кислота   | — |
| Метенамино-вая кислота    | — |
| Амидопирин                | — |
| Фенилбутазон              | — |
| Нидометазин               | — |
| Гидрокортизон             | — |
| Преднизолон               | — |
| Кодеин                    | — |
| Морфин                    | + |
| Диметотиазин              | + |
| Ципрогептадин             | + |
| Аминазин                  | + |
| Дибенамин                 | + |
| Феноксисбензамин          | + |
| Пиридинолкарбамат         | — |
| Лидофлазин                | — |
| Хлорпирамин               | + |
| Гливекол                  | + |

Примечание: «+» — фармакологическими препаратами брадикинина и малом числе тест-объектов противовоспалительных препаратов обусловлено и ку, окружающие ткани.

Пиридинолкарбама-возможности его тера-следования Шимамото-констрикции, вызванн



предупреждали или ослабляли воспалительный отек конечности, вызванный ожогом или введением каолина, активирующего фактор Хагемана. Кортизол блокирует контактную активацию калликреиновой системы и высвобождение кининов. Однако соотношение эф-

Таблица 18

| Препарат                  | Эффекты                                   |                   |  |                 |                  |                                     |                              |                                      |   |                                    |
|---------------------------|---|-------------------|--|-----------------|------------------|-------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------|---|------------------------------------|
|                           | изолированная<br>кишка, морская<br>свинка | рог макаки, крыса | изолированная<br>легкая, морская<br>свинка | кишечник, крыса | отек лапы, крыса | кожная капиллярная<br>проницаемость | У-эригема,<br>морская свинка | бронхоконстрикция,<br>морская свинка | васкулярная<br>боль, человек,<br>животные | артериальное<br>давление, животные |
| Салициловая кислота       | —   |                   | —  |                 |                  | — +                                 |                              |                                      | +   |                                    |
| Ацетилсалициловая кислота | —   |                   | — +  | —               | +                | +                                   | +                            | +                                    | +   | +                                  |
| Флуфенаминовая кислота    | +   |                   |  |                 | +                | +                                   | +                            | +                                    | +   | — +                                |
| Мефенаминовая кислота     | +   |                   |  |                 |                  | +                                   |                              |                                      |   | +                                  |
| Амидопирин                | —   |                   | —  |                 |                  |                                     |                              | +                                    | —   | +                                  |
| Фенилбутазон              | +   | +                 | +  | —               | — +              | +                                   |                              | +                                    | +   | +                                  |
| Индометацин               | +   | +                 |  | —               | +                | —                                   | +                            | +                                    |   | +                                  |
| Гидрокортизон             |   |                   |  | — +             | +                | —                                   |                              |                                      |   | —                                  |
| Преднизолон               |   |                   |  | —               |                  |                                     |                              |                                      |   |                                    |
| Кодеин                    | +   |                   |  |                 |                  |                                     |                              |                                      | +   |                                    |
| Морфин                    | +   |                   |  |                 |                  |                                     |                              |                                      | +   | —                                  |
| Диметотиазин              | +   |                   | +  |                 |                  |                                     |                              |                                      |   |                                    |
| Ципрогептадин             | +   | +                 |  | +               | —                |                                     |                              |                                      |   | — +                                |
| Аминазин                  | +   |                   |  |                 |                  | +                                   |                              | +                                    | +   |                                    |
| Дибенамин                 | +   |                   |  |                 |                  |                                     |                              |                                      |   |                                    |
| Феноксibenзамин           | +   |                   |  |                 | +                | —                                   |                              | —                                    |   |                                    |
| Пиридиноккарбамат         | —   | —                 | —  |                 | +                | +                                   |                              |                                      | +   | —                                  |
| Лидофлазин                | +   |                   |  |                 | —                | — +                                 |                              | —                                    |   |                                    |
| Хлорпирамин               |   | +                 |  |                 | +                | — +                                 |                              |                                      |   |                                    |
| Гливекол                  | +   | +                 |  |                 | +                |                                     |                              |                                      |   |                                    |

Примечание: «+» — блокирование кининовых эффектов различными фармакологическими препаратами; «—» — отсутствие блокирующего действия.

Эффектов брадикинина и торможение их гормонами изучено еще на малом числе тест-объектов. Некоторые исследователи считают, что противовоспалительное действие перечисленных гормональных препаратов обусловлено их собственным влиянием на сосудистую стенку, окружающие ткани и не связано со специфической блокадой кининов.

**Пиридиноккарбамат.** Фармакологические свойства препарата и возможности его терапевтического применения были подробно исследованы Шимамото и др. Пиридиноккарбамат — ингибитор веноконстрикции, вызванной брадикинином *in vivo* и *in vitro*. 50—



400 мкг/мл препарата обратимо тормозят сократительный эффект брадикинина и метиониллизилбрадикинина на изолированных сосудах кролика. Однако при исследованиях на перфузируемых легких, отрезке кишки морской свинки, матке крысы не удалось установить блокирующего влияния пиридиноккарбамата. Пиридиноккарбамат не влияет также на гипотензивный эффект брадикинина.

Отечественный аналог пиридиноккарбамата — пармидин, предложенный М. Д. Машковским и Г. Я. Шварцем, тормозит связанное с активацией кининов увеличение сосудистой проницаемости и развитие острого экссудативного воспаления.

Пиридиноккарбамат нашел широкое применение для профилактики и лечения атеросклероза.

**Антагонисты гистамина, ацетилхолина, серотонина, катехоламинов.** Некоторые препараты с антигистаминной активностью тормозят вызванные брадикинином или каллидином сокращения кишки морской свинки. Следует, однако, иметь в виду, что кинины влияют на высвобождение гистамина и, следовательно, действие антигистаминных препаратов может быть вторичным.

Антагонисты гистамина и серотонина из группы анальгетиков и антипиретиков не тормозили бронхоспазм, вызванный брадикинином у морских свинок.

Несколько исследований посвящено ципрогептадину, ингибитору серотонина и гистамина, препарату, используемому для лечения аллергических проявлений. Ципрогептадин обратимо тормозил эффект брадикинина на отрезке кишки морской свинки и гипотензивное действие у крыс. Этот ингибитор предупреждал также констрикторную реакцию сосудов уха кролика и активацию калликренновой системы крови, вызванные введением животному пирогенала.

Данные о влиянии холинолитиков на эффекты брадикинина противоречивы. Показано, что сокращения отрезка кишки морской свинки под влиянием брадикинина можно заблокировать атропином. Количественная оценка этой блокады в сравнении с действием других ингибиторов позволила прийти к выводу, что помимо прямого действия на гладкую мускулатуру брадикинин обуславливает высвобождение из ткани ацетилхолина. Эффект брадикинина можно усилить эзерином.

Исследуя действие холинолитиков Werle, Lorenz (1960) пришли к выводу о сходстве кининовых и ацетилхолиновых рецепторов гладких мышц кишечника. Однако атропин не влиял на эффекты брадикинина. Атропин не блокировал также рефлекторные реакции на системное давление и дыхание, получаемые при введении брадикинина в изолированную в гуморальном отношении конечность кошки.

При анализе действия адренолитиков или ингибиторов моноаминоксидазы на эффекты кининов было выявлено, что резерпин и ипрониазид ослабляют гипотензивное действие брадикинина у собак. Такой же эффект наблюдается у адреналэктомированных животных. Однако  $\alpha$ -адреноблокатор тропafen не влиял на депрессорное действие брадикинина, а  $\beta$ -адреноблокаторы вискен и индерал



усиливали вызванную кининами гипотензивную реакцию у крыс. В опытах на изолированной, перфузируемой раствором Тироде конечности кошки показано, что симпатомиметики фентоламин и дихлоризопротеренол ослабляли вазоконстрикторный эффект введенного внутриаортально брадикинина.

**Потенцирование эффектов брадикинина.** Усиление биологических эффектов брадикинина и других кининов может возникать как следствие влияния на обмен активности кинина или непосредственного воздействия потенцирующих субстанций на кининчувствительные структуры ткани. Здесь описаны вещества, действующие преимущественно по второму принципу, хотя точное разделение провести сложно.

**Протеазы.** Кининпотенцирующее или сенсibiliзирующее действие протеаз было исследовано на различных гладкомышечных препаратах. В этом ряду выделяются химотрипсин и трипсин, действие которых специфично именно для кининов. Потенцирование эффектов ангиотензина, ацетилхолина, серотонина, гистамина отсутствовало. Предварительная обработка гладкомышечных тест-объектов химотрипсином позволяет повысить порог их чувствительности по отношению к брадикинину и каллидину в 5—10 раз. Потенцирующее действие химотрипсина было исследовано *in vivo* на фоне вызванного брадикинином бронхоспазма и увеличения сосудистой проницаемости у морских свинок. Брадикининпотенцирующим действием обладал также предшественник химотрипсина — химотрипсиноген. Это дало повод рассмотреть влияние протеазных ферментов, денатурированных нагреванием или инактивированных специфическими ингибиторами (диизопропилфлюорофосфатом). Инактивированные ферменты не обладали кининпотенцирующим действием. Следовательно, механизм потенцирующего влияния протеаз, исследованный на изолированных гладкомышечных препаратах, связан с наличием энзиматической активности, под действием которой происходит высвобождение из ткани кининсенсibiliзирующих субстанций. Для точной оценки кининпотенцирующего или сенсibiliзирующего действия существенное значение имеет активность фермента и время его контакта с тканью.

**Продукты гидролитического действия протеаз.** Анализируя влияние трипсина на высвобождение кининов из плазмы крови, Nampberg et al. (1968) обнаружили в гидролизате пептидные осколки, обладающие кининпотенцирующей активностью. Их потенцирующий эффект оказался специфичным для брадикинина: действие ацетилхолина, гистамина, ангиотензина и эледиозина на отрезок кишки морской свинки не усиливалось, а эффект серотонина тормозился.

При гидролизе фибриногена тромбином, помимо фибрина, образуются фибринопептидные продукты, именуемые кофибринами. Из крови человека, собаки, рогатого скота были изолированы два основных типа фибринопептидов, потенцирующая активность и молекулярная структура которых были подробно исследованы. Подобно пептидам (продуктам трипсинового гидролиза), фибринопепти-



ды специфичны для брадикинина. Они не потенцировали действие других полипептидов и биоаминов *in vitro*, однако ■ высоких концентрациях сами обладали контрактильной активностью.

При определении механизма кининпотенцирующего действия гидролитических пептидов высказывается предположение о торможении тканевых кининаз. Присутствие кининразрушающих энзимов ■ ткани кишки морской свинки или роге крысиной матки было показано в ряде работ. Однако кининазная активность препарата кишки морской свинки слишком мала в сравнении с потенцированием эффектов брадикинина. Высказывается ■ другое предположение, что действие потенцирующих субстанций (ферментов, продуктов их гидролиза, дисульфидных соединений) следует рассматривать на уровне клеточных мембран. Эти субстанции меняют структуру мембраны таким образом, что облегчается доступ брадикинина к рецептору. Стереохимические изменения поверхностных радикалов мембраны обеспечивают внедрение ■ нее молекул определенного размера и формы, чем обеспечивается специфичность физиологических реакций в отношении именно брадикинина.

**Низкомолекулярные соединения.** Ингибиторы фибринолиза —  $\epsilon$ -аминокапроновая кислота, ацетил- $\epsilon$ -капроновая кислота, *n*-аминометилбензойная кислота ■ концентрации 0,01 М потенцировали действие брадикинина на кишку морской свинки. На эффекты элдоизина, ангиотензина и гистамина это действие не распространялось. Однако ■ концентрациях порядка 0,1 М и выше указанные антифибринолитики тормозили сократительную активность кининов, ангиотензина, а также серотонина и гистамина. Кининпотенцирующий эффект этих препаратов не связан с блокадой кининаз.

Вещества местного анестезирующего действия ■ зависимости от концентрации и используемого тест-объекта потенцировали или тормозили эффекты брадикинина. Исследования на изолированной перфузируемой раствором Локка конечности кошки показали, что вызванная брадикинином вазоконстрикция потенцируется прокакаином. Диэтиламиноэтанол ■ кокаин также усиливали эффект брадикинина. Другие вещества (тетракаин, ксикаин, *n*-аминобензойная кислота) в тех же условиях, наоборот, тормозили действие брадикинина. Подобные же закономерности потенцирующего или тормозящего действия препаратов были обнаружены и на отрезке кишки морской свинки. Разноречивость этих результатов не позволяет сделать какие-либо заключения о механизме действия анестетиков на эффекты брадикинина.

Препараты другого фармакологического ряда — симпатолитики (резерпин, феноксibenзамин, дибенамин, аминазин) усиливали или тормозили ■ зависимости от дозы эффекта брадикинина.

Поскольку большинство из перечисленных препаратов находит применение в медицинской практике, следует учитывать их возможное влияние на эффекты брадикинина, образующегося в организме в результате физиологических или патологических реакций.

Оценивая в целом данные о влиянии веществ, потенцирующих

Интерес к проблеме «П...  
биологов и других специа...  
распространением этих ве...  
физиологических функций...  
В 1930 г. два гинеколога...  
жили, что семенная жидкос...



или тормозящих эффекты брадикинина и других кининов, можно отметить следующие моменты.

1. Несмотря на многочисленные исследования различных препаратов, тормозящих эффекты брадикинина, не найдены вещества, которые обладали бы специфической антикининовой активностью. Попытки синтезировать на базе брадикинина полипептиды с большей активностью или аналоги-ингибиторы не принесли выраженных результатов. Интересные перспективы открываются с исследованием калликреиновых и кининовых антител. Однако специфичность получаемых сывороток существенно зависит от чистоты исходных препаратов калликреина и брадикинина.

2. Значительную сложность для оценки эффективности препаратов представляют данные, полученные на различных животных. Например, антигистаминные препараты мепирамин и трипролидин тормозят вызванное брадикинином и гистамином увеличение проницаемости сосудов кожи у крыс и мышей; для кроликов такое действие в отношении брадикинина выражено значительно меньше, а у морских свинок не наблюдается совсем. Критическая оценка таких расхождений представлена Vogel et al. (1971).

3. При изучении сосудистых реакций следует учитывать, что чувствительность органов или сосудистых зон по отношению к различным веществам сильно варьирует. Поэтому для оценки как эффекта кининов, так и субстанций, тормозящих или потенцирующих их действие, не следовало бы ограничиваться использованием единичных доз, как это наблюдается во многих работах, а осуществлять исследования в широком диапазоне концентраций.

4. Данные, полученные в последние годы, указывают на существенную роль легких в метаболизме как эндогенных, так и экзогенных субстанций. Степень превращения веществ — активация или инаktivация их в легочном русле оказывается различной. Это обстоятельство необходимо учитывать при испытании кининпотенцирующих или тормозящих средств. Таким образом, способ и место введения препарата в кровоток, физиологическое состояние легочной системы должны быть акцентированы специально. До сих пор в фармакологических исследованиях этому важному моменту не уделялось достаточного внимания.

## ГЛАВА 7 ПРОСТАГЛАНДИНЫ

Интерес к проблеме «Простагландины» со стороны медиков, биологов и других специалистов связан прежде всего с широким распространением этих веществ и разнообразием выполняемых ими физиологических функций.

В 1930 г. два гинеколога из Нью-Йорка Kurzrok и Lieb обнаружили, что семенная жидкость человека вызывает сильное сокраще-



O[C@H]1CC[C@@H](O)[C@H]1O

штриховая линия в положении  
находится ниже плоскости коль-  
вой радикал расположен над пл-  
Характерные черты всех пр-  
ятычленного цикла, *транс-двой*  
хельной группы при C : 15.  
Известно около двадцати  
чают несколько серий, которые  
В и др.:

Известно около двадцати  
чают несколько серий, которые  
В и др.:

CC1=C(C(=O)C=C1)C(C)CC=C

Цифровой индекс около 100. Связи в молекуле ПГ: 1 —  $C:13-C:14$ ; 2 — дополнительная связь  $C:13-C:14$ ; 3 — третья  $C:13-C:14$  двойная связь. Обозначения  $\alpha$  и  $\beta$  для групп на гидроксильной  $\alpha$  и  $\beta$  для локализованной (или же локализованной) группы все имеют значения в природе ПГ. Простагландин классифицируется по наличию связанных с циклом и наличия связанных с циклом обозначений E и F даны ПГ, обозначения C:9. Как ПГ, положение в позиции C:11. ПГ, гидроксил в позиции C:11. ПГ, серий C или B — изомеры ПГА. Недавно из организма выделены группу в положении C:11. В последние годы много работ по синтезу простагландина (простагландина) и др. Простагландин (простагландин) — продукт биосинтеза простагландина.

C[C@H]1C=CC=C1

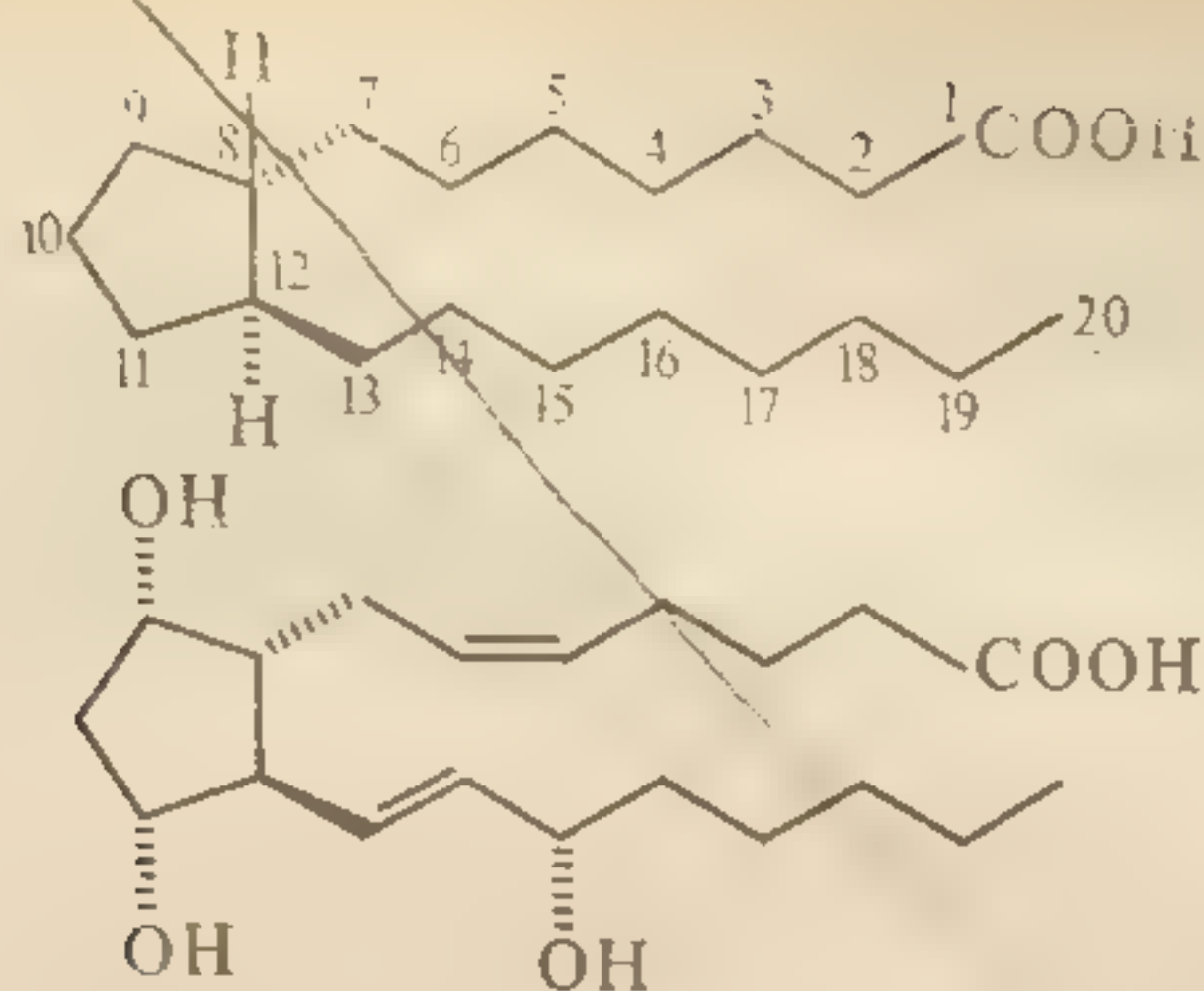
Цифровой индекс около 100. Связи в молекуле ПГ: 1 —  $C:13-C:14$ ; 2 — дополнительная связь  $C:13-C:14$ ; 3 — третья  $C:13-C:14$  двойная связь. Обозначения  $\alpha$  и  $\beta$  для групп на гидроксильной  $\alpha$  и  $\beta$  для локализованной (или же локализованной) группы все имеют значения в природе ПГ. Простагландин классифицируется по наличию связанных с циклом и наличия связанных с циклом обозначений E и F даны ПГ, обозначения C:9. Как ПГ, положение в позиции C:11. ПГ, гидроксил в позиции C:11. ПГ, серий C или B — изомеры ПГА. Недавно из организма выделены группу в положении C:11. В последние годы много работ по синтезу простагландина (простагландина) и др. Простагландин (простагландин) — продукт биосинтеза простагландина.

Цифровой индекс около 100. Связи в молекуле ПГ: 1 —  $C:13-C:14$ ; 2 — дополнительная связь  $C:13-C:14$ ; 3 — третья  $C:13-C:14$  двойная связь. Обозначения  $\alpha$  и  $\beta$  для групп на гидроксильной  $\alpha$  и  $\beta$  для локализованной (или же локализованной) группы все имеют значения в природе ПГ. Простагландин классифицируется по наличию связанных с циклом и наличия связанных с циклом обозначений E и F даны ПГ, обозначения C:9. Как ПГ, положение в позиции C:11. ПГ, гидроксил в позиции C:11. ПГ, серий C или B — изомеры ПГА. Недавно из организма выделены группу в положении C:11. В последние годы много работ по синтезу простагландина (простагландина) и др. Простагландин (простагландин) — продукт биосинтеза простагландина.

Цифровой индекс около 100. Связи в молекуле ПГ: 1 —  $C:13-C:14$ ; 2 — дополнительная связь  $C:13-C:14$ ; 3 — третья  $C:13-C:14$  двойная связь. Обозначения  $\alpha$  и  $\beta$  для групп на гидроксильной  $\alpha$  и  $\beta$  для локализованной (или же локализованной) группы все имеют значения в природе ПГ. Простагландин классифицируется по наличию связанных с циклом и наличия связанных с циклом обозначений E и F даны ПГ, обозначения C:9. Как ПГ, положение в позиции C:11. ПГ, гидроксил в позиции C:11. ПГ, серий C или B — изомеры ПГА. Недавно из организма выделены группу в положении C:11. В последние годы много работ по синтезу простагландина (простагландина) и др. Простагландин (простагландин) — продукт биосинтеза простагландина.

Цифровой индекс около 100. Связи в молекуле ПГ: 1 —  $C:13-C:14$ ; 2 — дополнительная связь  $C:13-C:14$ ; 3 — третья  $C:13-C:14$  двойная связь. Обозначения  $\alpha$  и  $\beta$  для групп на гидроксильной  $\alpha$  и  $\beta$  для локализованной (или же локализованной) группы все имеют значения в природе ПГ. Простагландин классифицируется по наличию связанных с циклом и наличия связанных с циклом обозначений E и F даны ПГ, обозначения C:9. Как ПГ, положение в позиции C:11. ПГ, гидроксил в позиции C:11. ПГ, серий C или B — изомеры ПГА. Недавно из организма выделены группу в положении C:11. В последние годы много работ по синтезу простагландина (простагландина) и др. Простагландин (простагландин) — продукт биосинтеза простагландина.

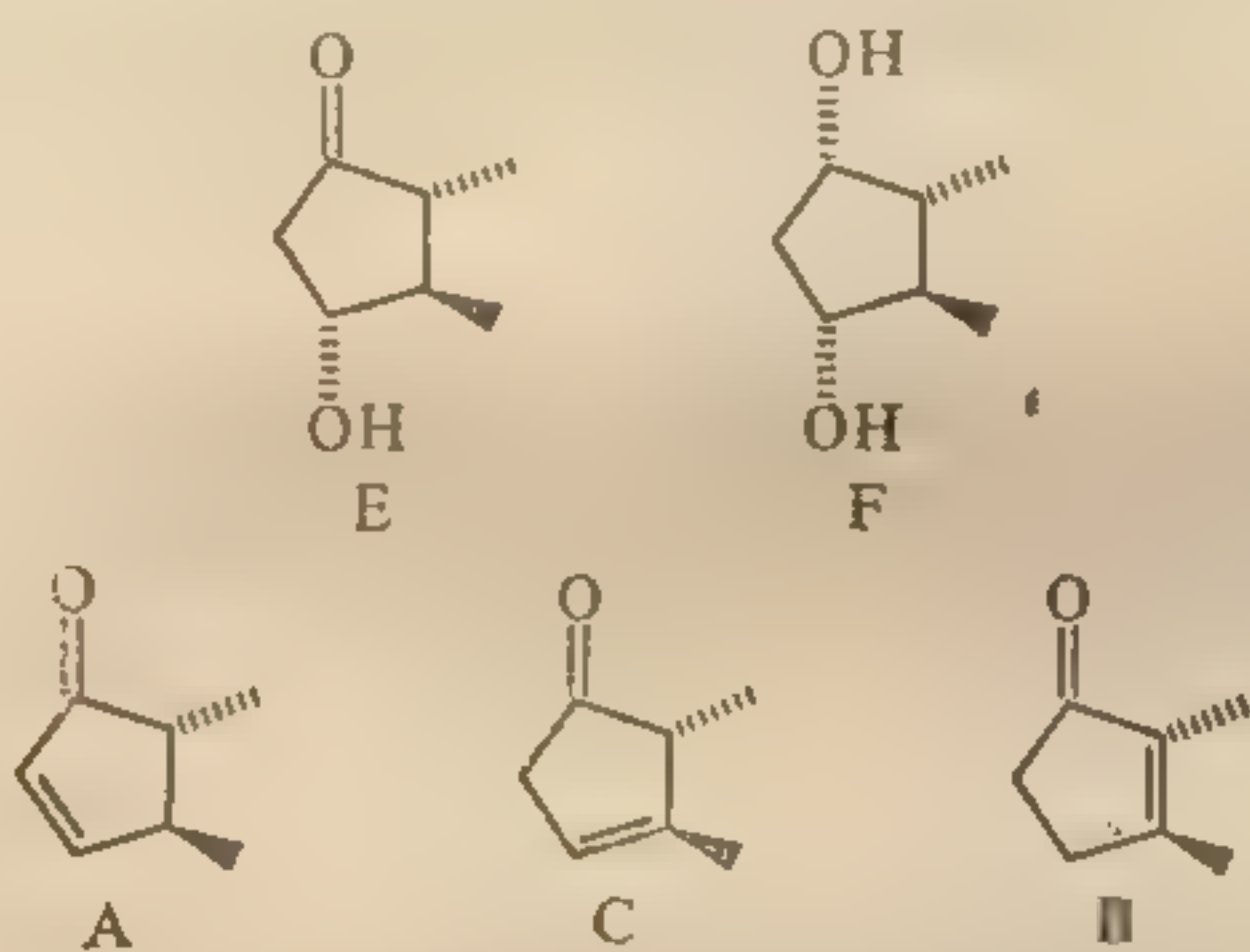




штриховая линия в положении C:7—C:8 указывает, что эта боковая цепь находится ниже плоскости кольца ( $\alpha$ -позиция), ■ связь C:12—C:13 — что боковой радикал расположен над плоскостью кольца ( $\beta$ -позиция)].

Характерные черты всех природных простагландинов — наличие ■ молекуле пятичленного цикла, *транс*-двойной связи ■ положении C:13—C:14 ■  $\alpha$ -гидроксильной группы при C:15.

Известно около двадцати натуральных простагландинов. Среди них различают несколько серий, которые обозначаются латинскими буквами E, F, A, C, B и др.:



Цифровой индекс около буквенного символа указывает на количество двойных связей в молекуле ПГ: 1 — имеется одна *транс*-двойная связь ■ положении C:13—C:14; 2 — дополнительная *цис*-двойная связь ■ позиции C:5—C:6; 3 — третья *цис*-двойная связь ■ положении C:17—C:18.

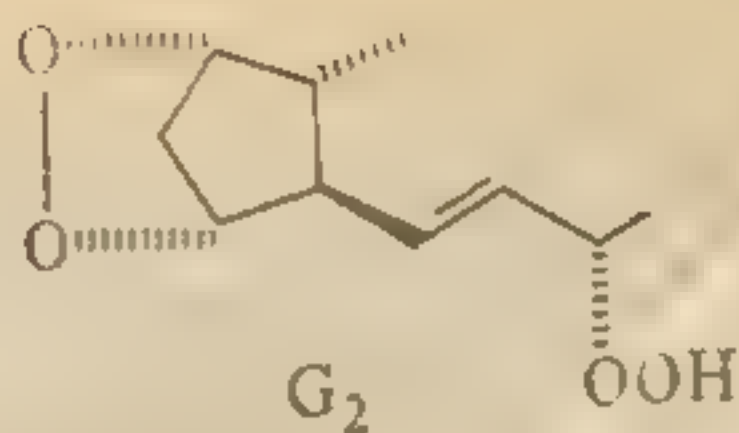
Обозначения  $\alpha$  и  $\beta$  для простагландинов серии F указывают, где расположена гидроксильная группа ■ позиции C:9 — находится ли она ниже плоскости кольца ( $\alpha$ ) или же локализована на противоположной стороне ( $\beta$ ). Встречающиеся в природе ПГF все имеют  $\alpha$ -конфигурацию.

Простагландины классифицируются в зависимости от формы пятичленного цикла и наличия связанных с ним разных функциональных групп. Буквенные обозначения E и F даны ПГ, имеющим кетонную или гидроксильную группу в положении C:9. Как ПГ серии E, так и ПГ группы F имеют дополнительный гидроксил в позиции C:11. ПГА — продукт дегидроксилирования ПГЕ, а ПГ серий C или B — изомеры ПГА.

Недавно из организма выделены ПГ, содержащие дополнительную гидроксильную группу в положении C:19, например 19-гидрокси-ПГА<sub>2</sub>, 19-гидрокси-ПГВ<sub>2</sub> и др.

В последние годы много внимания уделяется исследованиям нового ПГ — простациклина (простагландин X, ПГG<sub>2</sub>), который является промежуточным продуктом биосинтеза простагландинов. Это соединение относится к эндопероксидам:





В дальнейшем, при анализе молекулярного строения ПГ и сопоставлении полученных результатов было выявлено, что активность соединений коррелирует с величинами энергии взаимодействия окончаний боковых цепей молекулы и снижается в такой последовательности:  $F_1 > F_1' > A_1 > B_1$ . Одновременно было показано, что и биологическая активность ПГ убывает в том же порядке.

Эти сведения позволили предположить, что энергия взаимодействия между двумя боковыми цепями определяет потенциальную активность ПГ. Действительно, при введении дополнительной двойной связи в молекулу ПГ наблюдается увеличение энергии взаимодействия боковых цепей, и, вероятно, поэтому простагландины с двумя двойными связями более активны, чем с одной.

## § 2. Распределение, биосинтез и метаболизм

Простагландины в различных концентрациях найдены почти во всех тканях млекопитающих. Они выявлены и идентифицированы в головном мозгу, легких, печени, почках, селезенке, эндометрии, менструальной крови, амниотической жидкости, тимусе, надпочечнике, щитовидной и поджелудочной железах, скелетной мышце, радужной оболочке и других тканях.

Наибольшее количество ПГ находится в семенной жидкости человека, в которой идентифицировано свыше 10 соединений ( $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$ ,  $F_{1\alpha}$ ,  $F_{2\alpha}$ ,  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_1$ ,  $B_2$ , а также 19-гидрокси- $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_1$  и  $B_2$ ). Там же недавно были обнаружены два новых простагландина — 19-гидрокси- $E_1$  и  $E_2$ .

Содержание ПГ в других органах и тканях у человека и животных сильно варьирует. При введении в кровь меченых  $PGF_2$  или  $PGF_2\alpha$  наибольшее количество метки накапливается в печени, почках, легких и миометрии.

Под влиянием различных стимулирующих воздействий наблюдается высвобождение больших количеств ПГ из разных органов и тканей. Показано, что выброс ПГ резко возрастает при раздражении нервов электрическим током. Например, установлено, что такая стимуляция эффекторных нервов селезенки или желудка приводит к значительному выходу из них ПГ. Аналогичное явление наблюдается при развитии воспалительных процессов, при бронхиальной астме и кровотечениях. В больших количествах ПГ выделяются при механических растяжениях разных органов, например легких или желудка. Биогенные амины также способны влиять на выброс этих биологически активных веществ. Так, ацетилхолин стимулирует их выделение из надпочечников, норадреналин способствует их выходу из жировой ткани.

Высвобождению простагландинов под влиянием различных сти-

...который их биосинтез...  
...линолевой кислоты...  
...из которых при не...  
...кислота — предшественник...  
...образуются ПГ с двумя...  
...альная схема этого процесса...



Для биосинтеза простагландинов локализованные в цитоплазме стимулирующего воздействия липазы А, вследствие чего превращается в прямой предшественник — арахидоновую кислоту, которая...

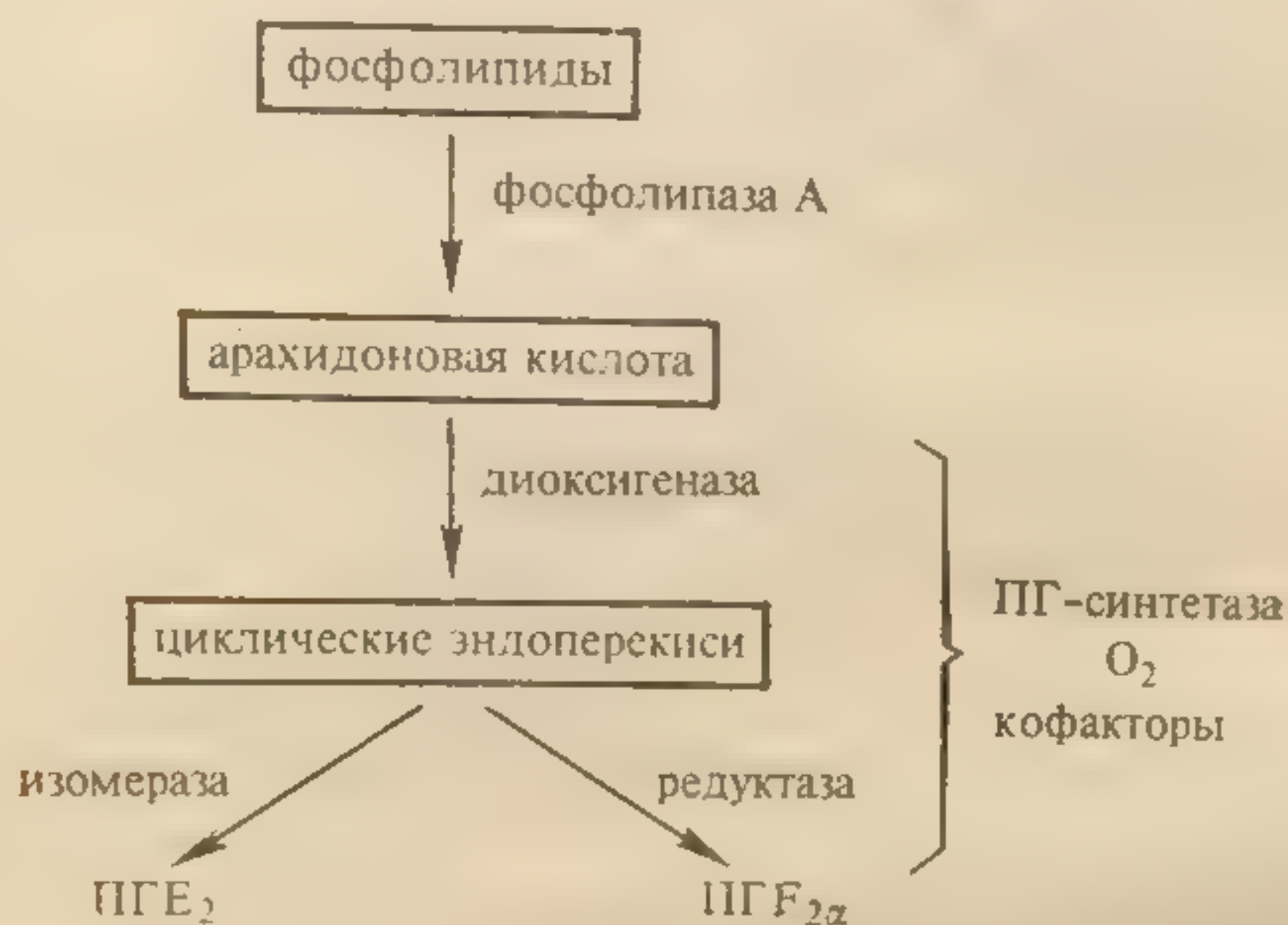
На следующем этапе простагландин синтезируется из арахидоновой кислоты. Простагландин синтезируется в печени. Среди них — семенные простагландин, слизистая кишок и др.

В систему ПГ-синтеза участвуют в биосинтезе ПГ ферменты — циклооксигеназа и пероксилиаза. Высказано предположение, что локально расположенные ферменты участвуют в соотношении путей...



мулов-«высвободителей» предшествует энергичный и чрезвычайно быстрый их биосинтез в клетке. Для этого необходимо наличие линолевой кислоты, депонированной в клетке в виде фосфолипидов, из которых при необходимости она высвобождается. Линолевая кислота — предшественник, из которого энзиматическим путем образуются ПГ с двумя двойными связями в молекуле. Принципиальная схема этого процесса представлена на схеме 8:

Схема 8



Для биосинтеза простагландинов необходимы фосфолипиды, локализованные в цитоплазматической мембране. Под влиянием стимулирующего воздействия происходит резкая активация фосфолипазы А, вследствие чего линолевая кислота высвобождается и превращается в прямой предшественник простагландинов — арахидоновую кислоту, которая поступает из мембран внутрь клетки.

На следующем этапе под влиянием системы простагландинсинтетазы образуются простагландины G<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>, обладающие очень высокой биологической активностью.

Простагландинсинтезирующие системы найдены во многих тканях. Среди них — семенные пузырьки, легкие, центральная нервная система, слизистая кишечника, мозговая ткань надпочечника и др.

В систему ПГ-синтетазы входят разные ферменты, принимающие участие в биосинтезе ПГ: диоксигеназа, изомераза, донор водорода — кислородоксиредуктаза и др. Для ее успешного функционирования требуется молекулярный кислород и различные кофакторы.

Высказано предположение, что кофакторы синтетазной системы, локально расположенные в специфических тканях, могут влиять на соотношение путей биосинтеза ПГЕ и ПФ.



Следует подчеркнуть, что мощным стимулятором активности простагландинсинтезирующей системы является глутатион. Этот факт заслуживает особого внимания, так как можно предполагать, что взаимодействие простагландинов, их эндопероксидов и глутатиона имеет большое значение для функционирования защитных и обезвреживающих от чужеродных веществ систем клетки, ■ также для выполнения метаболической функции.

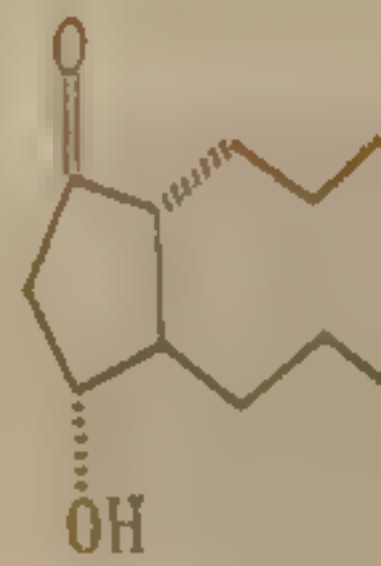
На дальнейших стадиях биосинтеза ПГ происходит образование из эндопероксидов ПГЕ<sub>2</sub> ■ ПГФ<sub>2α</sub>. Этот процесс, который протекает в эндоплазматическом ретикулуме, осуществляется с помощью разных ферментов: изомеразы и редуктазы. Оба названных простагландина называются первичными, так как из них синтезируются соединения других серий. Как показано на схеме биосинтеза простагландинов, из ПГЕ<sub>2</sub> образуется ПГА<sub>2</sub>, который может превращаться в изомеры ПГВ или ПГС. Это нашло подтверждение и в экспериментах *in vitro*: ■ присутствии слабой кислоты или щелочи ПГЕ подвергается дегидрированию кольца, в результате чего образуется ПГА. В присутствии сильной щелочи двойная связь ■ положении С:10—С:11 перемещается ■ позицию С:8—С:12 ■ образуется ПГВ.

Арахидоновая кислота (5, 8, 11, 14-ейкозатетраеновая кислота) — не единственный предшественник простагландинов. Дигомо-*i*-линоленовая кислота, образующаяся из линолевой, а также 5, 8, 11, 14, 17-ейкозапентаеновая кислота — соединения, из которых аналогичным ПГЕ<sub>2</sub> и ПГФ<sub>2α</sub> биосинтетическим путем получают соответственно простагландины с одной или тремя двойными связями ■ молекуле, например ПГЕ<sub>1</sub>, ПГФ<sub>1α</sub>, ПГЕ<sub>3</sub> или ПГФ<sub>3α</sub>.

Простагландины не депонируются ■ тканях и имеют короткий жизненный цикл. Их биологическое действие реализуется ■ трех основных направлениях: 1) действие на клетку, в которой они вырабатываются; 2) влияние на окружающие клетки; 3) эффекты на ткани, находящиеся на значительном отдалении от места биосинтеза. Последний вид активности проявляется после поступления ПГ в кровь и обусловлен стойкостью их молекул в организме. По такому типу действуют ПГ серии А, в отличие от которых ПГЕ и ПГФ из-за их быстрого разрушения в крови оказывают преимущественно местное влияние. В связи с этим первичные простагландины называют также тканевыми (локальными) гормонами.

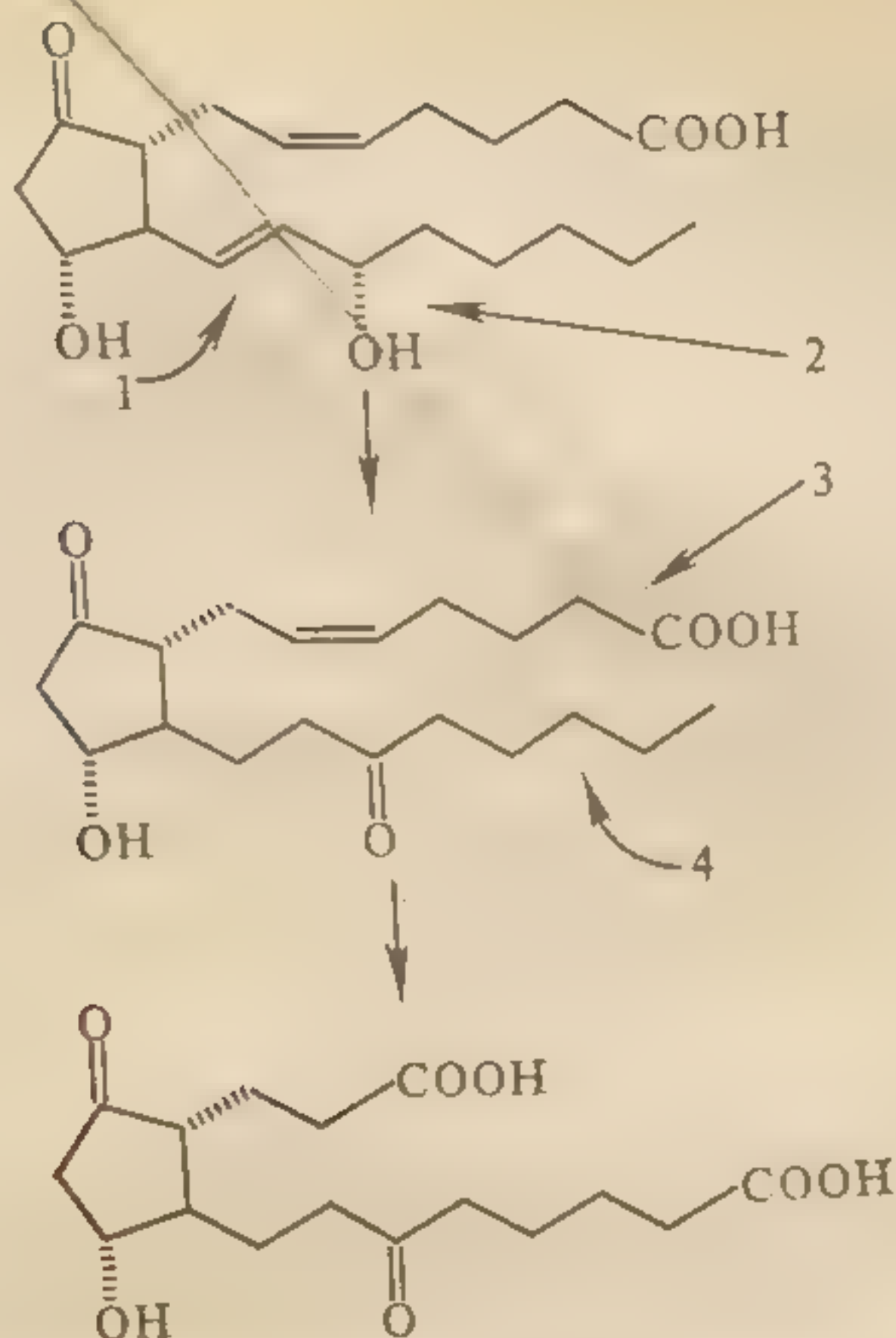
Основные органы, в которых происходит метаболизм простагландинов, — легкие, печень и почки. В легких инактивируются главным образом ПГ серий Е ■ F. Установлено, что при первом же их прохождении по малому кругу кровообращения разрушается до 90% этих веществ. ПГА, как более стойкие соединения, поступают в большой круг кровообращения и оказывают значительное влияние на разные органы и ткани.

Вещества этой группы инактивируются преимущественно ■ печени. Например, инактивация ПГЕ<sub>2</sub> протекает следующим образом:



1, 2, 3, 4 — последовательность  
ле происходит насыщение двойно  
и затем, образование кетогруппы  
протекают в легких, причем дег  
рив двойной связи. Следующие  
чени. В этом органе происходит  
в результате чего она сокращает  
далее, последняя фаза — ω-окис  
в положении С:20 до карбокси.  
Конечные продукты инактив  
активностью и быстро выводятся  
Из приведенных сведений ви  
нов завершается в печени, где  
ω-окисление, которые происхо  
этому можно предполагать, чт  
осуществляется с помощью нит  
При инактивации простагл  
динения, как правило, значите  
им предшественникам. Тем не м  
рые способны превосходить их  
мер. 15-кето-ПГФ<sub>2α</sub> вызывает бо  
ние гладких мышц, в особеннос  
В литературе высказано мн  
роль этиологического фактора м  
видному, именно этот метабо  
тор, ответственный за развитие  
Другое вещество, образую  
ПГФ<sub>2α</sub> сильно сокращает





(1, 2, 3, 4 — последовательность метаболических реакций). Вначале происходит насыщение двойной связи в положении  $C:13-C:14$ , а затем, образование кетогруппы в позиции  $C:15$ . Эти две фазы протекают в легких, причем дегидрирование идет дольше, чем разрыв двойной связи. Следующие две стадии осуществляются в печени. В этом органе происходит  $\beta$ -окисление верхней боковой цепи, в результате чего она сокращается до четырех атомов углерода, и далее, последняя фаза —  $\omega$ -окисление концевой метильной группы в положении  $C:20$  до карбоксильной.

Конечные продукты инактивации не обладают биологической активностью и быстро выводятся из организма.

Из приведенных сведений видно, что метаболизм простагландинов завершается в печени, где идут заключительные реакции:  $\beta$ - и  $\omega$ -окисление, которые происходят при участии цитохрома P-450. Поэтому можно предполагать, что и метаболизм простагландинов осуществляется с помощью цитохрома P-450.

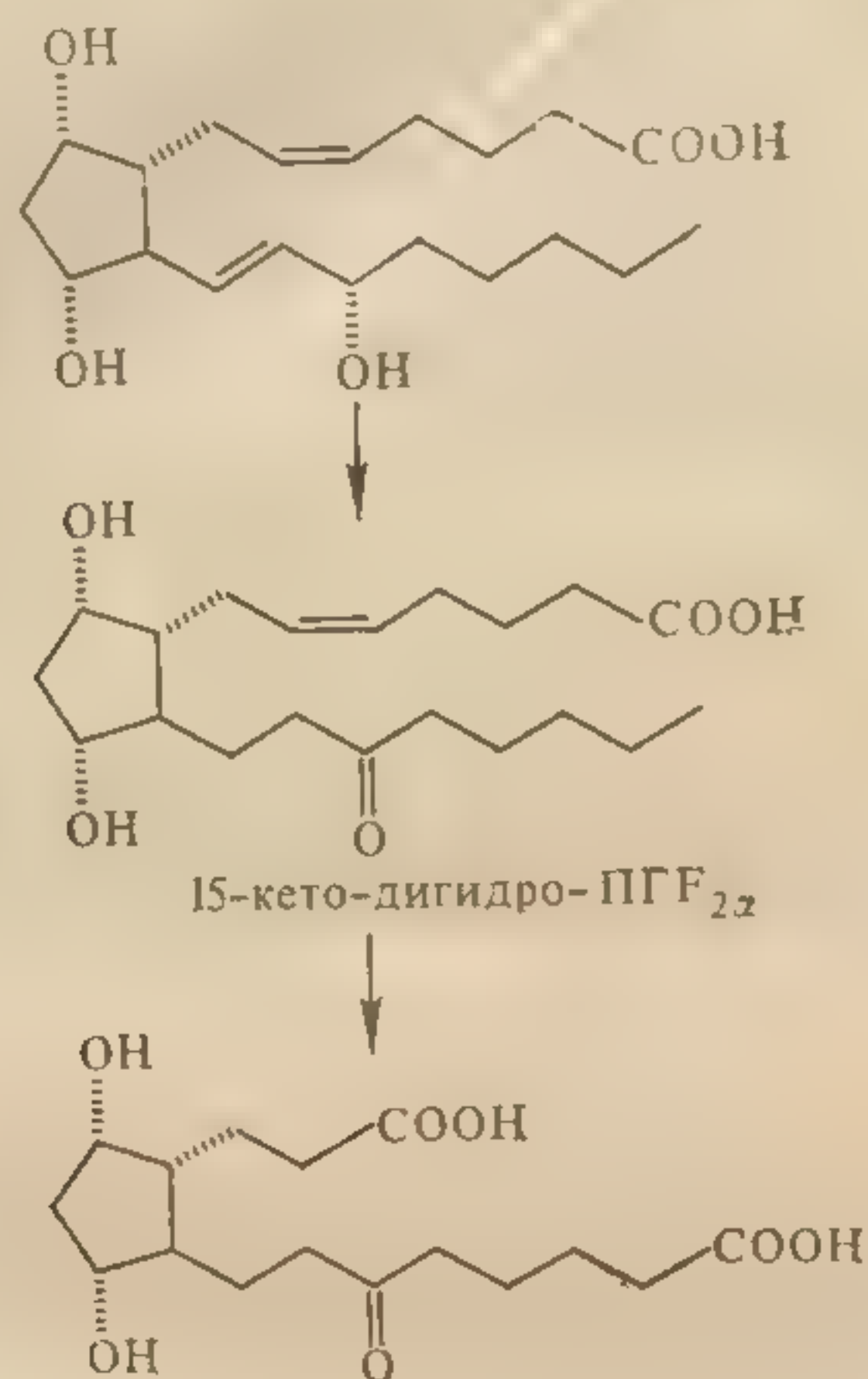
При инактивации простагландинов образуются различные соединения, как правило, значительно уступающие по активности своим предшественникам. Тем не менее обнаружены метаболиты, которые способны превосходить их по вызываемым эффектам. Например, 15-кето- $PGF_{2\alpha}$  вызывает более сильное, чем  $PGF_{2\alpha}$ , сокращение гладких мышц, в особенности бронхиальной мускулатуры.

В литературе высказано мнение, что ПГ серии F могут играть роль этиологического фактора в развитии бронхиальной астмы. По видимому, именно этот метаболит — сильнейший бронхоконстриктор, ответственный за развитие данного заболевания.

Другое вещество, образующееся из  $PGF_{2\alpha}$ , 15-кето-дигидро- $PGF_{2\alpha}$  сильнее сокращает гладкую мускулатуру матки, чем исход-



ный препарат, однако его действие кратковременно, так как он в организме быстро разрушается. Метаболизм  $\text{PGF}_{2\alpha}$  можно представить так:



Таким образом, из изложенного следует, что биологическая активность простагландинов лимитируется местом их биосинтеза и стойкостью молекул в организме.

### § 3. Физиологические эффекты

Простагландины распространены в природе чрезвычайно широко. Они обнаружены и идентифицированы почти во всех тканях и органах млекопитающих. Простагландины регулируют деятельность нервной, сердечно-сосудистой, дыхательной и репродуктивной систем, желудочно-кишечного тракта, почек. Предполагается, что они могут быть причиной развития бронхиальной астмы, гипертонической болезни, образования язв желудка, нарушений свертываемости крови и других патологических процессов.

При введении человеку экзогенных простагландинов наблюдаются различные эффекты. В низких дозах они оказывают успокаивающее действие, а в более высоких вызывают головную боль, приливы крови, покраснение лица и могут привести к развитию ступорозного состояния. Наблюдаются также спазмы в животе и диарея. В отдельных случаях они значительно учащают дыхание. Все явления исчезают через 15—30 мин после прекращения введения препарата.



Простагландины различных серий действуют по-разному на органы и ткани. Так, ПГЕ стимулирует гладкую мускулатуру желудочно-кишечного тракта и матки и одновременно расслабляют мышцы сосудов и бронхов. Они подавляют секрецию желудочного сока, диурез и натрийурез; ингибируют агрегацию тромбоцитов, липолиз и способны изменять функциональное состояние центральной нервной системы.

В отличие от ПГЕ простагландины серии F оказывают на гладкую мускулатуру преимущественно стимулирующее влияние, которое проявляется прежде всего сокращением бронхов и матки. Другие виды миотропного действия ПГF довольно сходны с ПГЕ, но менее выражены.

Как ПГF, так и ПГЕ регулируют репродуктивную функцию женщин. Использование этих простагландинов для вызывания родовой деятельности или аборта зависит главным образом от их окситоциноподобной и лютеолитической активности. Эффекты, вызываемые ПГЕ, более постоянны и резче выражены, чем при введении ПГF.

Простагландины серии A во многих отношениях сходны по физиологическому влиянию с ПГЕ, но они не действуют на обмен веществ и расслабляют лишь гладкую мускулатуру сосудов. ПГ этой группы вызывают снижение артериального давления, уменьшение желудочной секреции, усиление натрийуреза и диуреза.

При сопоставлении физиологических эффектов простагландинов становится непонятным, каким образом ПГ разных серий, которые высвобождаются из тканей или клеток одновременно, «уравновешивают» между собой противоположную активность и в результате каких взаимодействий возникают те или иные биологические ответы.

Окончательно установлено, что ПГ вовлечены в регуляцию репродуктивных процессов. Несомненно, они участвуют в нормальных родах и играют физиологическую роль в овуляции. Экспериментально и клинически показано, что к моменту овуляции в фолликулах резко возрастает содержание простагландинов, в особенности ПГF<sub>2α</sub>.

Лютеолизис медируется ПГF<sub>2α</sub>, хотя механизмы этого процесса окончательно не установлены. Лютеолитическая активность ПГF<sub>2α</sub> показана на разных видах животных. При введении экзогенного ПГF<sub>2α</sub> наблюдается регрессия желтого тела и снижение уровня прогестерона в крови. В ответ на введение простагландина повышается синтез эндогенного ПГF<sub>2α</sub>, который дополняет действие первого. Такое совместное влияние на организм приводит к резкому усилению сократительной деятельности матки и в конечном итоге к выбросу плодного яйца. Исследование этих процессов на молекулярном уровне позволит, по-видимому, найти одно из самых эффективных противозачаточных средств разового пользования.

В 1964 г. Bigdeman обнаружил, что ПГF<sub>2α</sub> оказывает прямое стимулирующее влияние на миометрий беременных и небеременных женщин. Позже было установлено, что аналогично действует и



ПГЕ<sub>2</sub>. По данному виду активности ПГ обеих серий отличаются от окситоцина — мощного стимулятора сократительной деятельности матки. Простагландины эффективны во все сроки беременности, тогда как окситоцин действует лишь на последней стадии. Особенности действия ПГ заключаются и в том, что ПГЕ<sub>2</sub> более активен, чем ПГФ<sub>2α</sub>, на поздних сроках беременности и что оба класса веществ с большей силой индуцируют родовую деятельность, нежели аборт (Bigdeman et al., 1968). Влияние препаратов более выражено при внутриматочном введении, чем при других способах введения, так как в этом случае они действуют непосредственно на ткань и вызывают минимальные побочные явления. Аналог ПГФ<sub>2α</sub> — 15-метил-ПГФ<sub>2α</sub> проявляет более сильное индуцирующее влияние при абортах, причем на ранних сроках беременности.

Показано, что ПГЕ вызывают спастическое сокращение маточных труб проксимальной части, а ПГФ усиливают спонтанные сокращения преимущественно дистальной части. Следовательно, преобладание ПГЕ приводит к повышению тонуса и снижению сократительной деятельности первой трети и относительной атонии двух других. Если же имеется недостаток ПГФ, то снижается сократительная деятельность двух дистальных третей и развивается относительный гипертонус первой, проксимальной. Оба процесса вызовут такое состояние, при котором оплодотворенная яйцеклетка будет транспортироваться к матке с большими трудностями. Такая задержка приведет к ее имплантации в маточной трубе. Можно предполагать, что в развитии подобной патологии участвуют оба механизма, так как нарушение баланса между простагландинами наблюдается при воспалительных процессах и других заболеваниях женских половых органов, являющихся этиологическими факторами развития внематочной беременности. Можно также высказать предположение, что введение экзогенного ПГФ<sub>2α</sub> приводит к усилению сократительной деятельности маточных труб, в результате чего оплодотворенная клетка будет перенесена в полость матки для последующего нормального развития.

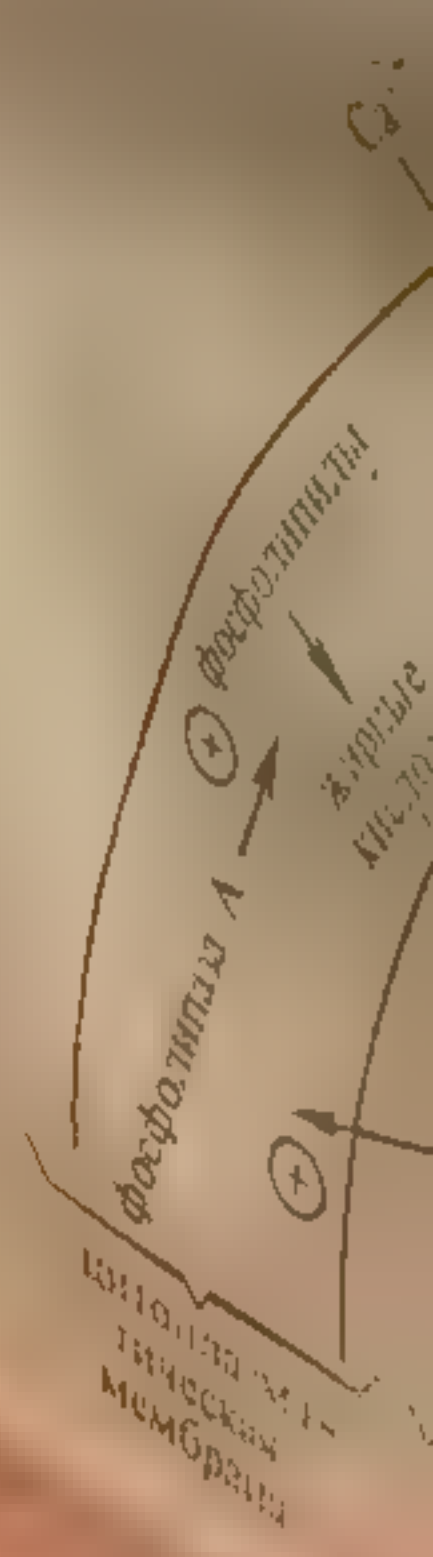
Следует упомянуть еще один этиологический фактор, который может привести к внематочной беременности. При зачатии с мужским семенем в организм женщины поступает мужской ПГФ<sub>2α</sub>, являющийся индуктором синтеза в ней эндогенного простагландина. Вероятно, причиной развития внематочной беременности является недостаточное количество ПГФ<sub>2α</sub> в мужской семенной жидкости, вследствие чего в женском организме эндогенный ПГФ<sub>2α</sub> синтезируется в недостаточной степени. Исследование этого вопроса является весьма интересным.

Таким образом, представленные сведения показывают, насколько большое значение простагландины имеют для нормального функционирования репродуктивной системы у женщин. Изыскания, предпринятые в этой области в будущем, позволят целенаправленно регулировать тонус маточных труб, помогут найти средство для предупреждения внематочной беременности, а также приведут к созданию эффективных противозачаточных средств.

Существует множество клеток, однако молекулярно-клеточные не установлены, что эти вещества в биологических и других методах исследования.

Ряд исследователей считают, что влияние через циклический (1972), обобщая сведения по следующей схеме. Простагландин в ответ на различные стимулы посредством изменения концентрации ц-АМФ регулирует агрегацию тромбоцитов при угнетении секреции желудочной секреции, снижении уровня ц-АМФ и стероидогенеза. В представлении ее удовлетворительной.

По теории Ramwell (1972) увеличивается содержание активности фосфолипидов. Фосфолипаза А в свертывании простагландинов в результате чего в клетку попадает активатор аденилатциклазы.



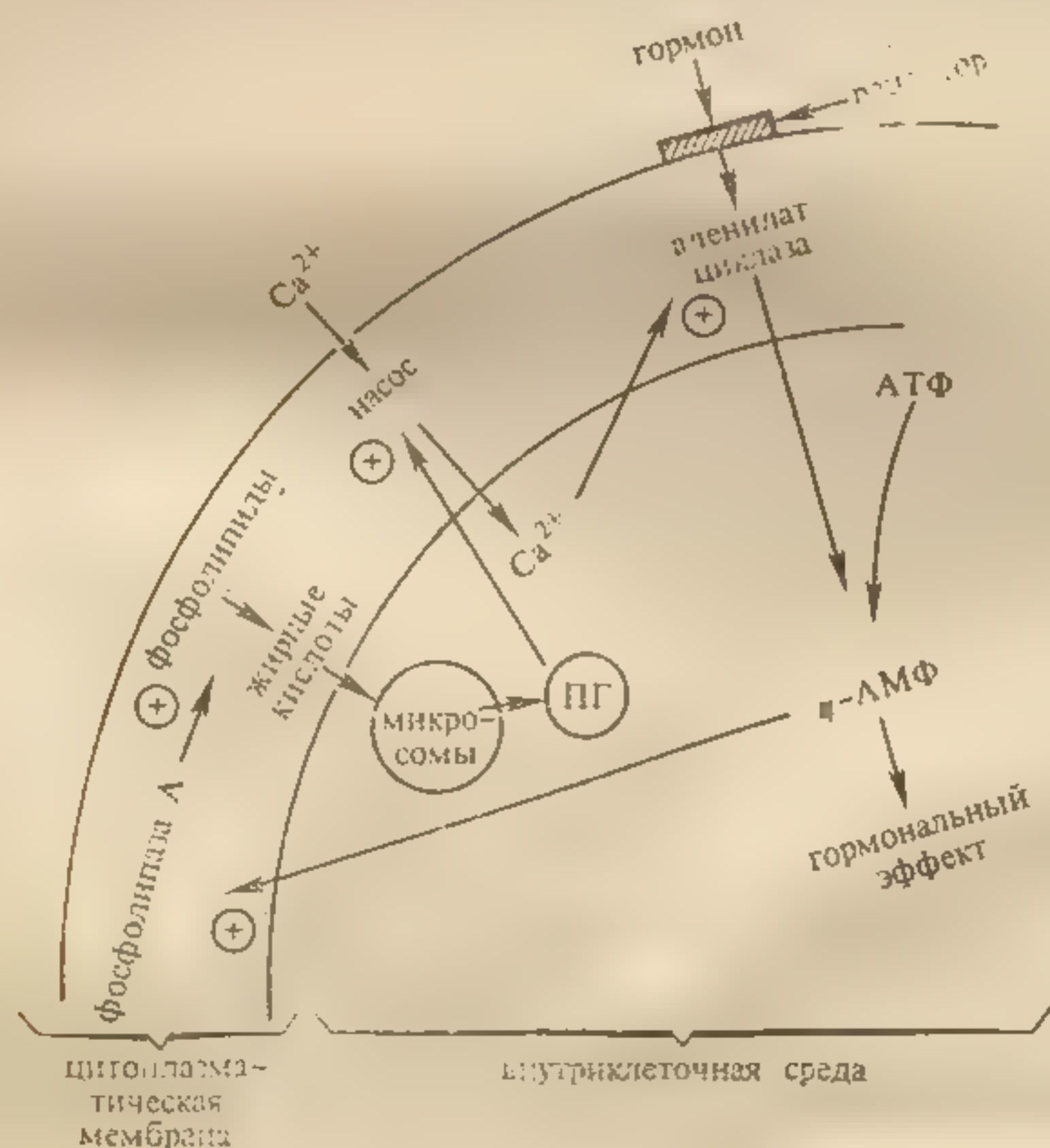


#### § 4. Молекулярные механизмы действия

Существует множество гипотез о влиянии простагландинов на клетку, однако молекулярные механизмы этого процесса до сих пор окончательно не установлены. Трудности исследований состоят в том, что эти вещества в организме быстро синтезируются и метаболизируются. Можно предполагать, что с помощью иммунохимических и других методов этот вопрос будет разрешен.

Ряд исследователей считают, что простагландины реализуют свое влияние через циклический аденозинмонофосфат. Так, Karim (1972), обобщая сведения по механизмам действия ПГ, предложил следующую схему. Простагландины, которые образуются в организме в ответ на различные воздействия, регулируют уровень  $\epsilon$ -АМФ посредством изменения скорости его биосинтеза. В случае если концентрация  $\epsilon$ -АМФ повышается, то это сопровождается ингибированием агрегации тромбоцитов. Снижение же уровня  $\epsilon$ -АМФ наблюдается при угнетении под влиянием ПГ липолиза и при подавлении секреции желудочного сока. Предполагается также, что снижение уровня  $\epsilon$ -АМФ при действии ПГ приводит к изменению стероидогенеза. В представленной схеме однако много неясного и считать ее удовлетворительной не представляется возможным.

По теории Ramwell (1970) при воздействии гормона на клетку в ней увеличивается содержание  $\epsilon$ -АМФ, что приводит к резкому повышению активности фосфолипазы А в цитоплазматической мембране. Фосфолипаза А в свою очередь приводит к усилению синтеза в клетке простагландинов, стимулирующих мембранный насос, в результате чего в клетку поступает значительное количество  $\text{Ca}^{2+}$ , который активирует аденилатциклазу





По такой схеме ПГ принимают участие в реализации действия на клетку не только гормонов. Предполагается, что аналогичный механизм существует при воздействии на нее и других соединений.

Согласно гипотезе Smythies (1971), плоскость кольца молекулы простагландина и одна боковая цепь располагаются на поверхности, а другая боковая цепь встраивается внутрь цитоплазматической мембраны. Такое взаимодействие ПГ с цитоплазматической мембраной приводит к нарушению ее конформации и проницаемости, вследствие чего изменяется функция клетки.

Несколько лет назад предполагалось, что простагландины действуют через рецепторы биогенных аминов. Исследования, проведенные в этом направлении, показали, что простагландины не проявляют специфического влияния на холино-, адрено-, серотонино- или гистаминорецепторы, локализованные в миометрии. Авторы пришли к выводу, что ПГ осуществляют свои эффекты на матку посредством других механизмов.

Представленные сведения показывают, что единой теории, которая объясняла бы молекулярные механизмы действия простагландинов, пока не существует. Можно предполагать, что для простагландинов в цитоплазматической мембране имеются свои специфические рецепторы, с которыми они взаимодействуют и через которые реализуются физиологические эффекты этих веществ.

## ГЛАВА 8

### СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ

Стероидные гормоны вовлечены в организме в регуляцию различных процессов клеточного роста, дифференцировки и метаболизма. Универсальная регуляторная роль стероидов позволяет использовать их в качестве «инструмента» познания многих принципов структурно-функциональной организации живой материи.

Широкий спектр проявлений физиологической активности стероидных гормонов определяет важность этого класса соединений для практической медицины. Простое перечисление нозологических форм, при терапии которых стероидные гормоны применяются в качестве лекарственных препаратов, заняло бы слишком много места. К сожалению, в большинстве случаев применение стероидных гормонов является паллиативным, а не радикальным средством лечения. В связи с этим хотелось бы проиллюстрировать на двух примерах значение исследований молекулярных механизмов действия стероидов для поиска адекватных (т. е. патогенетических) способов лечения гормонзависимых опухолей и сердечно-сосудистых заболеваний.

Важные наблюдения, указывающие на роль цитоплазматических рецепторов в тканевой реакции на стероидные гормоны, сделаны при изучении рецепторов эстрогенов из опухоли молочной железы. Обнаружено, что опухоли с низким содержанием цитоплазматических рецепторов эстрогенов плохо поддаются гормональной терапии.

## § 1. Классификация

Все стероидные гормоны — производные четырехкольчатого ядра, состоящего из колец А, В, С и D. Составляющие ядра углерода не отражает классификация.

Стероидные гормоны, исходя из вальности и количества углеродных атомов в боковой цепи, делятся на следующие группы: 1) С<sub>19</sub> — стероиды (андростерон), 2) С<sub>20</sub> — стероиды (прогестерон), 3) С<sub>21</sub> — стероиды (кортизол), 4) С<sub>22</sub> — стероиды (кортизон).

## § 2. Физиология

Изучение структуры стероидных гормонов в рамках классификации.



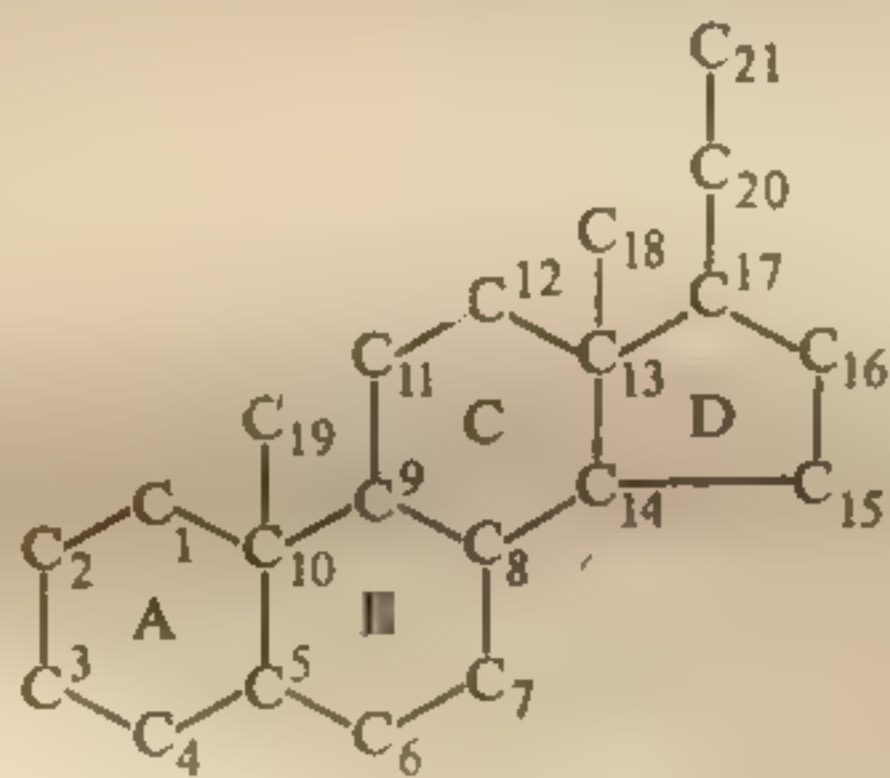
В то же время, опухоли с высоким содержанием рецепторов весьма чувствительны к обработке женскими половыми гормонами.

Второй пример касается генезиса гипертензии мозгового кровообращения, вызываемой дезоксикортикостероном (ДОК). Этот гормон, вводимый *in vivo*, индуцировал гипертензию у крыс линии *Sprague-Dawley*, тогда как линия *Long-Evans* была резистентна к этому воздействию. Сравнение содержания рецепторов ДОК в различных отделах головного мозга крыс обеих линий показало, что уровень рецепторов для данного гормона одинаков, за исключением гипоталамуса. Концентрация рецепторов ДОК в гипоталамусе крыс линии *Long-Evans* была значительно меньше, чем у крыс линии *Sprague-Dawley*. Введение препаратов, ингибирующих ресинтез рецепторов, препятствовало возникновению ДОК-индуцируемой гипертензии у мышей линии *Sprague-Dawley*.

Следовательно, сопоставление экспериментально полученных фактов о субклеточной организации патологически измененного органа с клиническими наблюдениями позволяет избрать верное направление в лечении конкретного вида патологии. Очевидно, что подобный подход, сочетающий данные молекулярной и клинической фармакологии, наиболее перспективен для практического использования стероидных гормонов в клинике.

## § 1. Классификация и химическая структура

Все стероидные гормоны — производные циклопентановых ядерного ряда: четыре кольца А, В, С и D составляет скелет стероидной молекулы. Нумерация атомов углерода не отражает последовательности таковой у производных фенантрена.



Стероидные гормоны, исходя из биологического действия, а также последовательности и количества углеродных атомов в их молекулах, делят на четыре основные группы: 1)  $C_{18}$ -стероиды — эстрогены (эстрадиол, эстрон, эстриол); 2)  $C_{21}$ -стероиды — гестагены (прогестерон); 3)  $C_{19}$ -стероиды — андрогены (тестостерон); 4)  $C_{21}$  — стероиды — кортикостероиды (кортизол, кортикостерон и альдостерон).

## § 2. Физиологические эффекты

Изучение структуры стероидных гормонов и механизма их действия на органном и организменном уровнях, уже давно проводимое в рамках классических медико-биологических наук (биохимии, мор-



фологии, фармакологии и др.), свидетельствует о необычайно широком спектре физиологических эффектов стероидов (табл. 19, Sluysen, 1975). По-видимому, в организме человека нет ткани, которая не была бы чувствительна к тому или иному классу стероидных гормонов.

Высокий уровень накопления стероидов в определенных тканях, ответственных за реализацию гормонального эффекта, способство-

Таблица 19

| Гормоны         | Физиологические эффекты  |
|-----------------|--|
| Эстрадиол       | Стимулирует рост тканей женской половой сферы; контролирует эстральный и менструальный циклы; ингибирует секрецию гонадотропина; увеличивает содержание липидов, липопroteидов и $Ca^{2+}$ в плазме крови; индуцирует синтез белка в печени  |
| Тестостерон     | Стимулирует: а) дифференцировку тканей мужской половой сферы в течение внутриутробного и постнатального развития; б) развитие вторичных половых признаков у самцов рептилий, амфибий, рыб, птиц и млекопитающих; в) накопление азота (анаболический эффект)  |
| Прогестерон     | Синергист эстрадиола в матке; ингибирует продукцию гонадотропина в гипофизе; стимулирует метаболизм галактозы в печени   |
| Кортикостероиды | Стимулирует накопление гликогена в печени; увеличивают активность $\alpha$ -оксoglutarаттрансаминаз гепатоцитов; оказывают анаболическое действие в печени и катаболическое в мышцах и лимфоидной ткани; противовоспалительные агенты; стимулируют метилирование норадреналина; увеличивают канальцевый транспорт $Na^{+}$ в почках и поддерживает ионный баланс $Na/K$ в мозге и мышцах; ингибируют секрецию АКТГ (кортизол) и ангиотензина (альдостерон) |

вал введению термина «орган-мишень». Установлено, что органами-мишенями для кортикостероидов служат печень и лимфоидная ткань — тимус, селезенка, лимфатические узлы. Такие органы, как матка, влагалище, молочные железы, избирательно накапливают эстрогены и гестагены. Органами-мишенями для андрогенов являются простата, семенники и эпидидимис. К принципиально важным фактам относится способность стероидных гормонов селективно задерживаться в некоторых отделах головного мозга, чаще всего в гипофизе и в различных ядрах гипоталамуса. Эти гипоталамические и гипофизарные структуры играют важную роль в регуляции действия стероидов по принципу обратной связи.

Переход на молекулярный уровень работы с объектом, осуществленный в биологии за последние два десятилетия, значительно расширил представления о механизмах специфического гормональ-



но-тканевого взаимодействия. Оказалось, что способность определенных клеток захватывать из окружающей среды стероидный гормон и удерживать его обусловлена наличием в цитоплазме этих клеток рецепторных молекул. Такие рецепторы — белки по своей природе — специфически связывают стероид, образуя с ним комплекс. Однако с морфологической точки зрения органы-мишени представляют собой гетерогенные образования. Развивая это положение, можно сделать вывод, что в органах-мишенях должны существовать компетентные клетки или клоны таких клеток, которые, обладая определенными эффекторными системами, накапливают и удерживают гормон. Следовательно, правильнее говорить не об органе-мишени, а о ткани-мишени или даже о клетке-мишени для стероидных гормонов (П. В. Сергеев, 1974).

Открытие рецепторов стероидных гормонов внесло определенную ясность в понимание процесса аккумуляции этих соединений в клетках-мишенях, но не объяснило механизма реализации специфической стероидной активности. Дело в том, что с позиций классической фармакологии рецептор определяется как биологический фактор, который трансформирует поступающий в клетку информационный сигнал (в данном случае стероидный гормон) в ее физиологический ответ (табл. 19). Образование комплекса стероидный гормон — рецептор, безусловно, играет важную (если не важнейшую) роль в механизме взаимодействия стероида с компетентной клеткой. Но понятно, что связывание стероидной молекулы с рецептором не трансформирует гормональный сигнал в физиологическую реакцию клетки. Другими словами, образование стероидрецепторного комплекса — необходимое, но недостаточное условие для проявления биологического ответа клетки-мишени. Таким образом, возникает противоречие между содержанием понятия «рецептор» и формой, в которую оно было облечено в результате исследования начальных этапов гормон-клеточного взаимодействия. Указанное противоречие послужило основанием для выделения другого типа клеточных структур, ответственных за осуществление последующих этапов циторцепции стероидов. Эти клеточные структуры, входящие в состав хроматина клеток-мишеней, получили название «ядерных акцепторов» стероидных гормонов.

Известно, что многие стероидные гормоны стимулируют рост соответствующих тканей, повышая в них уровень биосинтеза белка. С другой стороны, показано, что связывание стероидов с рецепторами в цитоплазме клетки-мишени приводит к направленному транспорту образующихся комплексов в ядро, где гормон обнаруживается в составе хроматина. Перемещение гормона в ядро клетки и взаимодействие его с компонентами хроматина (т. е. с ядерными акцепторами) сопровождается увеличением матричной активности и ускорением синтеза РНК и белка. Последнее и отражает биологический ответ компетентной клетки на гормональное воздействие.

Таким образом, можно заключить, что ядерные акцепторы стероидных гормонов — это структурные компоненты хроматина клеток-мишеней, взаимодействие которых со стероидами приводит к



трансформации гормонального сигнала в физиологическую реакцию. Иначе говоря, ядерные акцепторы представляют собой конечную (молекулярную) мишень для стероидов.

### § 3. Механизмы действия стероидов на клеточном уровне

Детальное изучение внутриклеточных этапов действия стероидов потребовало применения современных физико-химических методов молекулярной фармакологии и эндокринологии. Два события послужили стимулом для непосредственного перехода на субклеточный уровень исследования взаимоотношений гормона с компетентной клеткой. Это синтез меченых стероидов с высокой удельной активностью и разработка препаративных методов, позволяющих получать субклеточные структуры в достаточно чистом виде.

**Кортикостероиды.** Анализ тканевого распределения меченых глюкокортикоидов показал, что в наибольшей степени данные гормоны накапливаются в печени. Несколько меньшие количества этих стероидов ассоциируются с тимусом и селезенкой, почками и легкими, а также ядрами переднего гипоталамуса.

Опыты по инкубации *in vitro* срезов печени с меченым  $^{14}\text{C}$ -кортизоном продемонстрировали, что через 6 ч концентрация гормонов в ткани значительно превышает его содержание в инкубационной среде. Добавление немеченых глюкокортикоидов уменьшает степень связывания гормона с клетками печени, что свидетельствует о конкуренции данных гормонов за специфический клеточный рецептор. Изучение кинетики связывания меченого кортикостерона тимусом адреналэктомированных крыс позволило установить наличие в этих клетках специфических рецепторных молекул с молекулярной массой 100 000, концентрация которых составляла 2400 на одну клетку. Рецепторы кортикостерона по своей структуре — белки, так как ДНК-аза и РНК-аза не влияют на связывание гормона с рецептором, в то время как протеазы разрушают гормон-рецепторный комплекс.

Keisley (1962) установил, что введение крысам гидрокортизона резко увеличивает скорость биосинтеза РНК в ядрах печени. Это позволило автору высказать предположение о взаимодействии данного стероида с хроматином клеток печени. Возникает вопрос, как же гормон попадает в ядро клетки-мишени? Имеются убедительные доказательства, что рецепторный белок, локализованный в цитоплазме клеток печени, принимает непосредственное участие в транспорте кортизола в ядро (Beato et al., 1970). Кортизол связывается с макромолекулярным компонентом цитозоля клеток печени, и образующийся гормон-рецепторный комплекс седиментирует при центрифугировании в градиенте плотности сахарозы в области 4s. Инкубация ядер печени со свободным кортизолом и с комплексом гормон—рецептор показала, что гормон в комплексе с рецептором преимущественно проникает в ядро. В то же время несвязанный стероид не проходит через ядерную мембрану. В ядре обнаруживается трансформированный белок, так как константа седиментации



гормон-рецепторного комплекса возрастает до 9s. Последний связывается с хроматином и повышает уровень матричной активности.

Уместен вопрос, есть ли отличия в действии глюкокортикоидов на клетки печени и на лимфоидные клетки? Известно, что данные соединения усиливают метаболические процессы в печени и резко угнетают лимфоидную ткань. Начальные этапы взаимодействия глюкокортикоидов с клетками-мишенями обоих типов одинаковы — комплекс ядерного рецептора с гормоном вызывает увеличение синтеза специфических молекул РНК. Однако результатом повышения матричной активности хроматина лимфоидных клеток под действием данных гормонов является образование специфического белкового ингибитора, наличием которого и объясняется угнетение метаболических процессов в лимфоидной ткани (П. В. Сергеев и др., 1971).

Следует отметить, что за последние годы представления о структуре и свойствах рецепторов для глюкокортикоидов значительно усложнились. В частности, в лаборатории Beato в 1972 г. удалось показать, что в клетках печени присутствуют три рецепторных белка для глюкокортикоидов. Два белка, получивших название А (молекулярная масса 200 000) и В (молекулярная масса 50 000), связывали только природные глюкокортикоиды, в то время как третий белок, обозначенный авторами G (молекулярная масса 105 000), связывал и природные, и искусственные (дексаметазон, 9 $\alpha$ -фторкортизол) глюкокортикоидные гормональные препараты. Впоследствии три типа рецепторов для данного класса стероидных гормонов были обнаружены и в других органах-мишенях. По мнению многих исследователей, рецепторный компонент G — неспецифический альбуминоподобный белок. Другая гипотеза, выдвинутая Giapouroulos (1973), предполагает, что три типа рецепторов глюкокортикоидов — различные конформационные формы одного и того же рецепторного белка.

Таким образом, в клетках-мишенях взаимодействие кортико-стероидов с рецепторными белками способствует накоплению данных гормонов, транспорту их в ядро и увеличению матричной активности хроматина-мишени, что приводит к увеличению биосинтеза РНК и белка, т. е. к физиологическому ответу гормончувствительной клетки.

**Женские половые гормоны.** Наиболее изученным по сравнению с другими эстрогенрецепторными взаимоотношениями является вопрос о рецепции 17 $\beta$ -эстрадиола. Селективные эффекты эстрадиола в организме тесно связаны с его накоплением в таких органах, как матка, влагалище, молочные железы, гипофиз. Изучение субклеточного распределения меченого 17 $\beta$ -эстрадиола в клетке-мишени продемонстрировало, что стероид распределяется в основном между ядерными и цитоплазматическими фракциями, причем ядерная фракция содержит в три раза больше радиоактивности, чем растворимая фракция цитоплазмы. Jensen et al. (1968) провели сравнительный седиментационный анализ растворимой фракции цитоплазмы и экстрактов из ядерной фракции маток крыс. В клетках матки обна-



ружено два типа рецепторов: цитоплазматический (с константой седиментации около 9s) и ядерный (с константой седиментации 5s) рецепторы, связывающие  $17\beta$ -эстрадиол. Данные рецепторы весьма специфичны, так как глюкокортикоиды, андрогены и биологически неактивный  $17\alpha$ -эстрадиол не могут конкурировать с  $17\beta$ -эстрадиолом за рецептор. Цитоплазматический рецептор эстрадиола — белок, так как ДНК-аза и РНК-аза не разрушают гормон-рецепторный комплекс, и обработка протеазами вызывает его деструкцию. Однако вскоре Pusa et al. (1972) было найдено, что цитоплазматический рецептор представляет собой гетерогенный белок, который состоит из двух типов молекул с константами седиментации 8s, 6s и 4,5s. Молекулярная масса цитоплазматических рецепторов — 610 000 и 238 000 соответственно. Сравнивая ряд физико-химических свойств двух видов цитоплазматических белков (радиусы Стокса, молекулярные массы, данные по электрофокусировке и др.), авторы сделали вывод, что 8,6s-рецептор представляет собой тетраэдр, состоящий из четырех 4s-субъединиц. Было высказано предположение, что в цитоплазме клеток матки происходит поэтапная трансформация 8,6s-рецептора. Вначале при повышении ионной силы среды происходит обратимая диссоциация данного гетерогенного белка на две субъединицы с константами седиментации 5,3s каждая, а затем наблюдается дальнейшая необратимая диссоциация субъединиц с образованием 4,5s-рецептора. Следует иметь в виду, что дезинтеграция цитоплазматического рецептора на четыре субъединицы не вызывает увеличения числа молекул, связывающих гормон. В этих условиях гормон остается связанным только с одной эстрофильной субъединицей. Роль других субъединиц, вероятно, заключается в транспорте стероидной молекулы в цитоплазме и защите гормона от метаболических превращений. Важную роль в трансформации рецепторной молекулы играет так называемый рецептортрансформирующий фактор — белок с молекулярной массой около 100 000, относящийся к ферментам типа аминотрансферазы.

Итак, образование комплекса цитоплазматического рецепторного белка с гормоном «включает» цепь последовательных изменений структуры самого рецептора.

Каково же биологическое значение столь сложной трансформации гормон-рецепторного комплекса? Последовательная конформационная перестройка цитоплазматического рецептора эстрадиола приводит к образованию ядерной формы рецептора, способной проникать в ядро клетки-мишени. Ряд доказательств в пользу этого предположения был получен в лаборатории Горского (1971). Так, проводя инкубацию маток в присутствии высоких концентраций меченого  $17\beta$ -эстрадиола, было показано, что происходит быстрое насыщение гормоном 9s-цитоплазматического рецептора. Но уже через 1 ч около 90% радиоактивной матки исчезает из цитоплазмы, и параллельно наблюдается увеличение содержания меченого индикатора в ядрах. Кроме того, если проинкубировать матки в среде, содержащей  $17\beta$ -эстрадиол, и затем из этих маток выделить цитоплазматическую фракцию и проинкубировать ее снова с гормоном,



то не наблюдается дальнейшее связывание гормона с 8s-рецептором. Эти данные свидетельствуют, что цитоплазматический рецептор в процессе взаимодействия с эстрадиолом каким-то образом «расходуется» или разрушается. П. В. Сергеевым и др. (1974) были получены данные, подтверждающие гипотезу, что ядерный рецептор образуется из цитоплазматического или, по крайней мере, содержит в своем составе его субъединицу.

Таким образом, гормон, попадая в цитоплазму клетки-мишени, ассоциируется с цитоплазматическим 8s-рецепторным белком. Образующийся комплекс претерпевает ряд последовательных превращений, и в результате эстрадиол транспортируется в ядро, где обнаруживается 5s-ядерная форма рецептора.

С другой стороны, уже первые работы, посвященные изучению эффектов эстрадиола на молекулярном уровне, продемонстрировали влияние этого гормона на биосинтез РНК и белка в клетках матки. Еще в 1953 г. Szego и Roberts показали, что введение эстрогенов усиливает в матке синтез белка. Такой же характерной реакцией матки в ответ на введение эстрадиола является повышение синтеза РНК.

Можно заключить, что при действии эстрогенов происходит повышение матричной активности хроматина клетки-мишени. Впоследствии Mauger и Chalkley (1967) обнаружили 17 $\beta$ -эстрадиол в экстрактах, а также в препаратах хроматина клеток матки. Все эти данные подтверждают, что эстрогены реализуют свое биологическое действие, взаимодействуя с хроматином клеток, чувствительных к данным гормонам.

Наиболее актуальным аспектом в проблеме действия эстрогенов является вопрос о внутриядерных механизмах специфической эстрогенной активности. Сейчас можно считать твердо установленными лишь два факта: во-первых, акцепторной молекулой для эстрадиола в хроматине не служит молекула ДНК, во-вторых, 17 $\beta$ -эстрадиол взаимодействует с белковым компонентом хроматина. Известно, что гистоновые белки хроматина считаются репрессорами матричной активности хроматина эукариотов. Если учесть то, что эстрогены — сильные индукторы матричной активности, то можно предположить, что гормоны, связываясь с гистонами, вызывают дерепрессию определенных генов, сопровождающуюся увеличением биосинтеза РНК и белка в клетках-мишенях. В пользу этого предположения свидетельствуют результаты, полученные С. И. Огурцовым и А. И. Майтельсманом (1973), согласно которым 17 $\beta$ -эстрадиол обладает большим сродством к основным белкам хроматина. В то же время данные ряда исследований показывают преимущественное связывание 17 $\beta$ -эстрадиола кислыми белками, выделенными из хроматина клеток матки.

Представляет интерес предложенный недавно «каскадный» механизм действия эстрадиола, в соответствии с которым гормон взаимодействует с негистоновыми белками хроматина, вызывая дерепрессию одного (или немногих) генов. Результат этого взаимодействия — синтез так называемого «ключевого промежуточного бел-



ка», который опосредует все клеточные (как специфические, так и неспецифические) эффекты эстрадиола.

Необходимо подчеркнуть, что до сих пор дискутируется вопрос о биологической роли ядерного рецептора. Полагают, что ядерная форма рецептора либо транспортирует гормон к определенным участкам хроматина с последующим высвобождением стероидной молекулы, либо в комплексе с эстрадиолом непосредственно контактирует с компонентами хроматина.

Исследования последних лет показывают, что рецепторы к эстрадиолу распространены в организме более широко, чем это считалось ранее. Так, обнаружены белки, специфически связывающие эстрадиол, в почках, печени, поджелудочной железе. Рецепторные белки цитоплазмы матки, почек и печени обладают рядом сходных физико-химических свойств — высоким сродством и ограниченной емкостью к гормону, чувствительностью к температурным воздействиям и др. Более того, в органах-мишенях образующийся в цитоплазме эстрадиол-рецепторный комплекс также транслоцируется в ядро, поскольку из хроматина печени и почек экстрагируется рецепторный белок, насыщенный гормоном. Отличия эстрадиолсвязывающей активности печени, почек и матки проявляются главным образом в меньшей на 1—2 порядка концентрации рецепторов в цитоплазме и ядрах органов-мишеней.

Неодинаковый характер реакции органов-мишеней и «немишеней» на эстрадиол определяется различиями в структурной организации их рецепторного аппарата для эстрогенов. Генерализованность ответа тканей-мишеней на эти гормоны предполагает наиболее полную реализацию всех путей действия эстрогенов. В органах же, менее чувствительных к данным гормонам, может преобладать один из вероятных путей реализации гормонального эффекта.

Касаясь вопроса о циторцепции других эстрогенов, следует отметить, что в органах-мишенях для данных гормонов пока не обнаружено специальных рецепторов, связывающих эстрон и эстриол. Установлено, что интенсивное периферическое взаимопревращение эстрона,  $17\beta$ -эстрадиола и эстриола сдвигается в ткани в сторону преимущественного образования  $17\beta$ -эстрадиола. Возможно поэтому в клетках-мишенях присутствуют рецепторы только для одного эстрогена —  $17\beta$ -эстрадиола.

Рецепторы для прогестерона в органах-мишенях в течение длительного времени практически не исследовались, хотя об их существовании свидетельствовало специфическое накопление меченого гестагена в яйцеходах и миометрии матки. В 1972 г. в лаборатории O'Malley (1972) был выделен и охарактеризован по ряду физико-химических свойств цитоплазматический белок с молекулярной массой 50 000, обладающий высоким сродством к прогестерону. Оказалось, что при центрифугировании прогестерон осаждается из цитозола вместе с макромолекулярным компонентом в области 8s. При увеличении ионной силы среды происходит необратимая диссоциация 8s-рецептора на две субъединицы, названные автором А-и В-субъединицами. В отличие от цитоплазматического рецептора



эстрадиола как суммарный комплекс, так и обе субъединицы оказались очень специфичны к прогестерону, так как тестостерон, кортизол и эстрадиол не конкурировали с гестагеном. Принципиально важно, что оба компонента цитоплазматического рецептора прогестерона включались в изолированные ядра яйцеводов, причем рецептор В специфически связывался с белками хроматина клетки-мишени. Из полученных данных следует, что прогестерон, так же как и другие стероиды, транспортируется из цитоплазмы в ядро компетентной клетки, где взаимодействует с белковым компонентом хроматина.

Таким образом, суммируя приведенные сведения, вырисовывается следующая концепция, описывающая взаимодействие женских половых гормонов с клетками органов-мишеней. Вначале гормон из кровеносного русла попадает в цитоплазму гормончувствительной клетки, объединяясь в комплекс со специфическим макромолекулярным компонентом белковой природы. Образование комплекса гормонцитоплазматический рецептор вызывает последовательную трансформацию рецепторного белка, в результате которой гормон транспортируется в ядро. В формировании ядерных рецепторов принимает большое участие цитоплазматический белок. В ядрах акцептором гормон-рецепторного комплекса является белковый компонент хроматина. С момента взаимодействия гормона с белками хроматина в ядре клетки-мишени начинают проявляться регуляторные изменения, выражающиеся в увеличении биосинтеза РНК и белка.

**Андрогены.** Получение меченых андрогенов с высокой специфической активностью позволило изучить распределение этих стероидов в организме. Введение физиологических концентраций  $^{14}\text{C}$ -тестостерона крысам сопровождается неравномерным распределением метки по органам. Радиоактивный индикатор селективно концентрировался в простате, семенниках и эпидидимисе. Несколько меньшее количество радиоактивности обнаруживается в печени и почках. Отличительная способность андрогенов — их метаболическая трансформация в гормонзависимых органах. Наиболее активным метаболитом тестостерона считается дигидротестостерон (5 $\alpha$ -андростен-17-ол-3-он). В клетках органов-мишеней в несравненно большем количестве накапливается именно этот метаболит, который, по-видимому, истинный в физиологическом плане носитель андрогенной активности.

Многочисленные работы последних лет показывают, что избирательное накопление андрогенов в клетках-мишенях связано с наличием в их цитоплазме специфического рецептора, захватывающего данные гормоны. Цитоплазматический рецептор андрогенов представляет собой белок с молекулярной массой около 300 000, седиментирующий при центрифугировании вместе с гормоном в области 3,0—4,5s.

Изучая связывание андрогенов в цитоплазме клеток семенников и эпидидимиса, French и Ritzen (1973) обнаружили специфический андрогенсвязывающий белок (ABP), отличающийся по физи-



ко-химическим свойствам от открытых ранее цитоплазматических рецепторов тестостерона. АВР (мол. масса 50 000) проявлял высокое сродство к андрогенам. Кроме того при перевязке семявыносящих протоков не наблюдается связывание тестостерона клетками эпидидимиса. Сопоставляя данные, эти исследователи пришли к выводу, что АВР выполняет важную функцию межклеточного переносчика андрогенов из семенников в эпидидимис. По-видимому, наличие АВР в семявыносящих протоках обеспечивает захват тестостерона из лимфы, где гормон присутствует в высокой концентрации.

Взаимодействие андрогенов с ядрами компетентных клеток изучено недостаточно полно. Из экстрактов ядер семенников выделен ядерный рецептор тестостерона, представляющий собой белок с константой седиментации около 3s. Учитывая, что андрогены — сильные индукторы матричной активности хроматина, а также факт взаимодействия тестостерона с гистоновыми белками, можно предположить, что ядерным акцептором гормона является белок.

Приведенные данные позволяют заключить, что мужские половые гормоны способны проникать через мембраны клеток-мишеней, взаимодействуя в цитоплазме с различными классами рецепторных белков. Важную роль в механизме действия андрогенов играет утилизация гормона ядром, где данные стероиды связываются белковым компонентом хроматина.

## ГЛАВА II

### БЕЛКОВО-ПЕПТИДНЫЕ ГОРМОНЫ

В современной биологической науке трудно найти другую такую проблему, как функционирование белково-пептидных гормонов, которая бы привлекала столь пристальное внимание ученых-биологов различных специальностей.

Во-первых, данный вопрос имеет большое общетеоретическое значение, поскольку он непосредственно связан с проблемой саморегуляции организма как целостной живой системы. Сюда входят и «принцип обратной связи», и вопросы специфичности, или циторепции белково-пептидных гормонов, и проблема кодирования и передачи информации в живых системах, и «принцип биохимической универсальности» и т. д.

Во-вторых, понимание процессов регуляции гомеостаза и внутриклеточного метаболизма посредством белково-пептидных гормонов невозможно без четкого представления о структуре гормона, его аминокислотной последовательности и пространственной конфигурации, а также о строении и функционировании плазматических мембран клеток-мишеней, поскольку последние — точка приложения гормональной активности и обеспечивают медиирование информации с гормона внутрь клетки.

В-третьих, необходимо выделить клиническое значение данной проблемы, ибо многие вопросы этиологии, патогенеза и лечения эндокринных заболеваний целиком зависят от ее успешного решения.



И наконец, практическое значение, выражающееся в поиске путей синтеза искусственных гормонов и их заменителей, где бы сочеталась экономность решения с его эффективностью.

## § 1. Классификация и химическая структура

Как известно, к гормонам, имеющим белково-пептидную структуру, относятся гормоны гипофиза, поджелудочной и щитовидной желез, а также рилизинг-гормоны, или рилизинг-факторы гипоталамуса. Передняя доля гипофиза секретирует аденокортикотропный гормон (АКТГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), липотропный гормон (ЛТГ), соматотропный гормон (СТГ), тиреотропный гормон (ТТГ), лактогенный гормон (ЛГГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ). Промежуточная доля — меланоцитстимулирующий гормон (МСГ). Задняя доля — окситоцин и вазопрессин. Поджелудочная железа секретирует инсулин и глюкагон. В щитовидной железе образуется тиреокальцитонин.

По химическому строению белково-пептидные гормоны разнообразны. Большинство из них представляет собой простые пептиды, образованные одной пептидной цепью, в состав которой входит различное количество аминокислотных остатков от 3 в тиреотропин-рилизинг-факторе до 198 в ЛТГ. В отличие от других белково-пептидных гормонов молекула инсулина состоит из двух пептидных цепей, связанных между собой дисульфидными мостиками. ЛГ, ФСГ и ТТГ — сложные белки — гликопротеиды.

## § 2. Рецепторы белково-пептидных гормонов

Процесс реализации биологической активности белково-пептидных гормонов можно формально разбить на три последовательные стадии: 1) связывание с мембраной клетки-мишени; 2) транслокация биологической активности с гормона внутрь клетки — образование медиатора (ов) и 3) реализация активности медиатора — ответ клетки.

С рецепторами плазматических мембран для белково-пептидных гормонов связана проблема направленной специфики гормонального действия, или органотропности. Физиологические концентрации белково-пептидных гормонов в крови незначительны. Для СТГ, например, она составляет около  $5 \cdot 10^{-11}$ , инсулина —  $10^{-10}$ , глюкагона —  $3 \cdot 10^{-10}$  М. Естественно, что поддержание гомеостаза путем изменения клеточного метаболизма в данном случае возможно лишь, если гормоны будут заранее «знать», с какой клеткой какого органа им необходимо связаться.

Предположения о наличии рецепторов белково-пептидных гормонов в мембранах клеток-мишеней высказывались давно (в частности, Sutherland et al., 1962), но детальное изучение данного вопроса началось лишь с 1969 г., когда широкое применение нашли меченые  $^{125}\text{I}$  гормоны (Lefkowitz et al., 1969). Было показано, что связывание каждого гормона происходит строго специфично, т. е. исклю-



чительно с клетками определенных органов. Затем в 1971 г. был выделен высокомолекулярный комплекс, содержащий инсулин и белок, который, как предполагалось, отвечает за связывание инсулина и защищает его от расщепления. В 1972 г. Cuatrecasas выделил и исследовал основные физико-химические свойства этого белка — рецептора инсулина.

К настоящему времени выделены рецепторные белки практически для всех белково-пептидных гормонов, определены органые точки приложения гормональных активностей.

Однако органотропность — понятие довольно неопределенное, ибо орган — полифункциональное образование, а отсюда и клетки одного и того же органа различаются между собой строением, метаболизмом, а также эффекторным действием. Для такой «тонкой работы», которую выполняют гормоны, необходим более дифференцированный подход к понятию тропности, и не случайно, что рецепторы белково-пептидных гормонов даже в пределах одного органа различаются в качественном и количественном отношении в зависимости от функции клеток. Примером может служить локализация рецептора АКТГ в различных зонах коры надпочечника морских свинок, которая определялась измерением зависимой от АКТГ активности аденилатциклазы. Оказалось, что наибольшее ее повышение происходит на границе между клубочковой и пучковой зонами, а также в сетчатой зоне. Это подтвердилось и в опытах *in vivo* (Golder и Boyns, 1972). Подобные сведения были получены при исследовании влияния ЛГ на клетки фолликулов яичников свиньи, где клетки зернистого слоя крупных фолликулов по сравнению со средними и малыми связывали гормон в 10—100 раз больше. В тех же тканях, на которые направлено действие нескольких гормонов, например, жировой ткани, рецепторы разных гормонов различаются между собой.

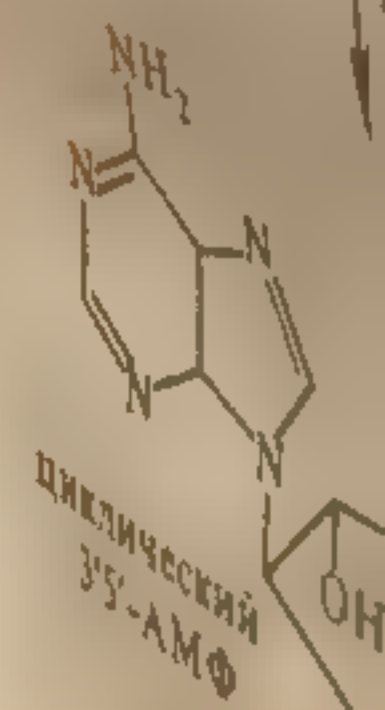
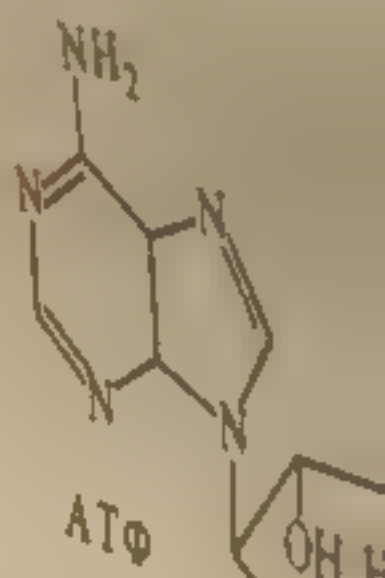
Разбирая вопросы рецепторов белково-пептидных гормонов, М. А. Панов и В. И. Самойлов (1975) приводят две группы фактов, свидетельствующих о локализации рецепторов на внешней стороне плазматических мембран. Это, во-первых, чувствительность рецепторов к протеолитическим ферментам, не действующим на внутреннюю поверхность мембран, и, во-вторых, сохранение активности гормонами, иммобилизованными на полимерной матрице, препятствующей проникновению гормонов внутрь клеток.

С использованием метода собственной белковой флуоресценции было показано, что процессы, которые сопровождают гормон-рецепторное взаимодействие, приводят к определенным структурным перестройкам рецепторных белков мембран. При сравнении влияния инсулина и АКТГ на характер свечения флуоресцентных зондов АНС- и НФН<sub>2</sub> в плазматических мембранах клеток печени и искусственных фосфолипидных везикулах (липосомах) было показано, что взаимодействие гормонов с плазматическими мембранами сопровождается изменением липидного слоя мембран, причем, по-видимому, конформационные перестройки рецепторного белка являются первичными, обуславливающими специфику последующих из-

§ 3. Роль аденилатциклазы в реализации биологической активности белково-пептидных гормонов.

Процесс взаимодействия белков плазматической мембраны с повышением внутриклеточной активности аденилатциклазы.

Структура аденилатциклазной системы следует понимать значимую роль ц-АМФ внутри клетки. Совместно с ц-АМФ своим состоянием степень активности. В процессе метаболизма ц-АМФ фосфорилируется, образуя АТФ с замыканием фосфатной связи в третьем положении фосфатной группы, образуя неактивный 5'-АМФ.





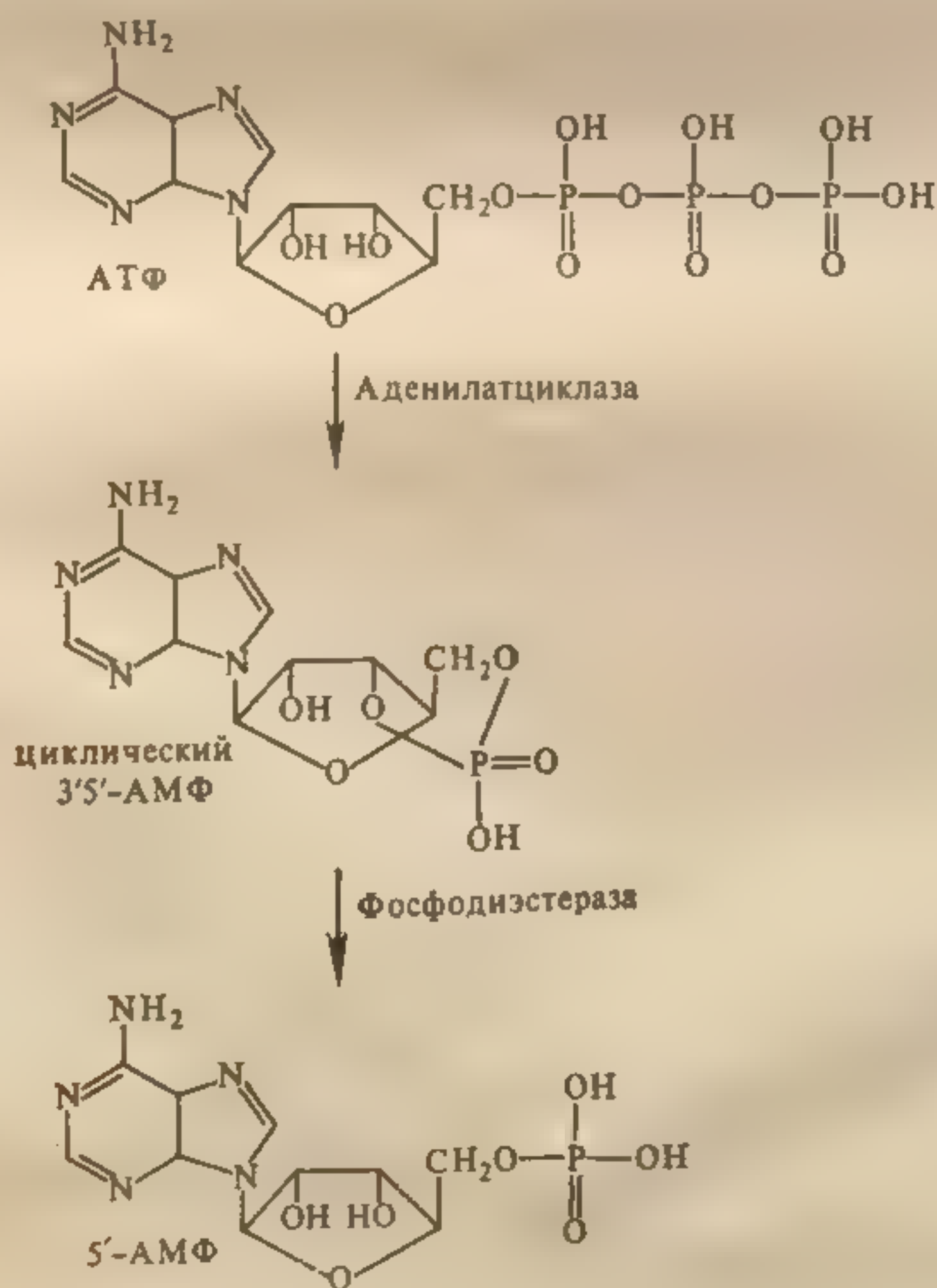
менений в липидах. Поскольку наблюдается определенная корреляция между регистрируемыми флуоресцентными характеристиками процесса взаимодействия гормонов с плазматическими мембранами и изменением степени активности мембрансвязанных ферментов, можно предположить, что конформационные изменения структурных элементов мембран и есть тот механизм, с помощью которого гормоны воздействуют на характер функционирования ферментных систем мембраны.

### § 3. Роль аденилатциклазной системы в реализации биологической активности белково-пептидных гормонов

Процесс взаимодействия белково-пептидных гормонов с рецепторными белками плазматических мембран клеток-мишеней приводит к повышению внутриклеточного уровня  $\epsilon$ -АМФ (кроме инсулина, о чем будет сказано на с. 234) путем активации фермента аденилатциклазы.

**Структура аденилатциклазной системы.** Под термином «аденилатциклазная система» следует понимать энзимный комплекс, обеспечивающий изменение уровня  $\epsilon$ -АМФ внутри клетки, совместно с мембранными структурами, определяющими своим состоянием степень активности ферментов.

В процессе метаболизма  $\epsilon$ -АМФ вовлечены два фермента: аденилатциклаза, гидролизующая АТФ с замыканием фосфатной группировки третьего и пятого углеродных атомов рибозы, и фосфодиэстераза, под действием которой происходит разрыв фосфатной связи в третьем положении  $\epsilon$ -АМФ с образованием биологически неактивного 5'-АМФ:





Аденилатциклазная система широко представлена в природе и была идентифицирована почти во всех тканях млекопитающих, а также некоторых низших позвоночных, беспозвоночных и слизистых грибах. Во всех тканях, по крайней мере там, где она изучена, аденилатциклазная система связана с клеточными мембранами. Однако у бактерий была найдена растворимая система аденилатциклазы.

Фермент аденилатциклазы наиболее вероятно локализуется на внутренней стороне плазматической мембраны, о чем свидетельствует подавление ее активности при действии протеолитическими ферментами на фрагменты плазматических мембран, в то время как обработка ими целостных клеток не приводит к подобному эффекту.

Необходимо отметить тесную как структурную, так и функциональную взаимосвязь аденилатциклазы с фосфолипидами мембран. Обработка мембран клеток печени фосфолипазами подавляет активирующее действие на нее глюкагона. То же наблюдается и при действии фосфолипаз на мембраны клеток щитовидной железы. Однако, по всей вероятности, изменение состояния фосфолипидов не полностью определяет механизм активации аденилатциклазы, поскольку даже после обработки мембран фосфолипазами фермент сохраняет чувствительность к действию фторида натрия. Экстракция аденилатциклазы из плазматических мембран печени крыс неорганическими детергентами приводит к потере ее чувствительности к глюкагону при сохранении способности активироваться фтором.

Фосфодиэстераза в отличие от аденилатциклазы помимо плазматической мембраны связана с растворимой фракцией. Фосфодиэстераза ингибируется метилксантинами, цитратом, некоторыми нуклеотидами и пирофосфатом.

**Влияние белково-пептидных гормонов на активность аденилатциклазной системы.** В табл. 20 представлены данные влияния некоторых белковых гормонов на активность аденилатциклазы в различных органах и тканях.

Таким образом, универсальная медирующая роль аденилатциклазы в процессе биологического действия белковых гормонов на клетки не вызывает сомнений.

В механизме активации аденилатциклазной системы белковыми гормонами особое внимание привлекают три аспекта: а) роль фосфолипидов в данном процессе; б) роль ионов кальция и в) механизм действия инсулина, поскольку он вызывает в отличие от других белковых гормонов снижение уровня внутриклеточного  $\alpha$ -АМФ.

**Роль липидов в активации гормонами аденилатциклазной системы.** Роль фосфолипидов сводится, во-первых, к обеспечению сродства рецептора к гормону и, во-вторых, к непосредственному участию в процессе активации аденилатциклазы. Например, обработка клеток щитовидной железы фосфолипазой С приводит к значительному уменьшению связывания меченого ТТГ. Также уменьшается связывание глюкагона и инсулина мембранами клеток печени после их инкубации с фосфолипазой А.

Изучение действия фосфолипазы С из *B. cereus*, гидролизующей кислые фосфолипиды, и фосфолипазы С из *Cl. perfringus*, которая гидролизует преимущественно нейтральные фосфолипиды, показало, что фосфолипаза из *B. cereus* почти полностью подавляет влияние глюкагона на аденилатциклазную систему, в то время как фосфолипаза из *Cl. perfringus* лишь частично, несмотря на то что гидролизу подвергалось до 60% мембранных фосфолипидов. Однако, поскольку общее количество связанного глюкагона не менялось до и после обработки мембран фосфолипазой из *B. cereus*, следует,

кислые фосфолипиды  
гидролизует преимущественно  
нейтральные фосфолипиды  
Роль ионов кальция в механизме  
действия глюкагона  
и инсулина  
Rubin et al. 1972

| Гормон      | Орган  |
|-------------|--|
| Глюкагон    | Печень<br>Миокард<br>Жировые клетки<br>Островки                                    |
| Инсулин     | Надпочечники<br>Жировые клетки   |
| Тироксин    | Жировая ткань<br>Мышцы<br>Тимоциты   |
| Паратгормон | Щитовидная железа<br>Желтое тело<br>Клетки фолликулы<br>Интерстициальные<br>клетки |
| АКТГ        | Семявыводящие<br>канальцы  |
| Адреналин   | Кожа лягушки   |
| Эпинефрин   | Почки<br>Кости   |
| Окситоцин   | Мозговой<br>пучок  |
| Вазопрессин | Изолированные<br>клетки  |
| Окситоцин   | Эпителий<br>венозных<br>пузырей<br>Мозговой  |

двинутую ранее гипотезу о том, что в процессе биологического действия гормонов, была обнаружена в частности, работа в направлении освобождения в ответ на действие гормонов  $\alpha$ -АМФ, которое стимулирует высвобождение из гранул тучных клеток двух основных реактивных веществ на действие гормонов.



что кислые фосфолипиды играют важную роль в активации аденилатциклазы под действием глюкагона, но не включены в процесс связывания глюкагона с рецептором.

Роль ионов кальция в механизме действия белково-пептидных гормонов. Rubin et al. (1972) экспериментально подтвердили вы-

Таблица 20

| Гормон      | Орган (ткань)-мишень                 | Влияние на АЦ-систему |
|-------------|--------------------------------------|-----------------------|
| Глюкагон    | Печень                               | Активация             |
|             | Миокард                              | »                     |
|             | Жировые клетки                       | »                     |
|             | Островки Лангерганса                 | »                     |
| АКТГ        | Надпочечники                         | Активация             |
|             | Жировые клетки                       | »                     |
| СТГ         | Жировая ткань                        | Активация             |
|             | Мышцы                                | »                     |
|             | Тимоциты                             | »                     |
| ТТГ         | Щитовидная железа                    | Активация             |
| ЛГ          | Желтое тело                          | Активация             |
|             | Клетки фолликулов                    | »                     |
|             | Интерстициальная ткань семенников    | »                     |
| ФСГ         | Семявыводящие каналы                 | Активация             |
|             | Клетки фолликулов                    | »                     |
| МСГ         | Кожа лягушки                         | Активация             |
| Кальцитонин | Почки                                | Активация             |
|             | Кости                                | »                     |
| Вазопрессин | Мозговой слой почек                  | Активация             |
|             | Почка                                | »                     |
| Окситоцин   | Изолированные жировые клетки         | Активация             |
|             | Эпителиальные клетки мочевого пузыря | »                     |
|             | Мозговой слой почки                  | »                     |
|             |                                      |                       |

двинутую ранее гипотезу относительно важной роли кальция в реализации биологической активности белково-пептидных гормонов. В частности, была обнаружена зависимость от ионов кальция процесса освобождения вновь синтезированного стероида из клетки. В последующих работах было отмечено, что в ряде случаев повышение уровня ц-АМФ вызывает подавление сокращения гладкой мускулатуры, которое стимулирует кальций, а также задержку освобождения гранул тучных клеток. Исходя из этого предложено выделить две основные реализующие системы, вызывающие ответные реакции на действие гормонов в клетках-мишенях: «систему «А», или



сократительную, и «систему «В», или метаболическую. Allison (1972) исходил из предпосылки, что все клетки эукариотов имеют по периферии цитоплазмы систему так называемых микрофиламентов — актомиозиновую систему, образующую относительно плотную сеть непосредственно под цитоплазматическими мембранами. Активация системы А может представляться как присоединение белкового гормона к рецептору, образование преходящей деполяризации мембраны, увеличение количества кальция внутри клетки и сокращение актомиозиновой системы.

Хотя гипотеза относительно двойной системы дискуссионна, однако она имеет определенное преимущество в плане классификации гормональных эффектов.

Помимо участия кальция в метаболизме клетки, где его уровень повышается при взаимодействии гормонов с плазматическими мембранами, он имеет важное значение непосредственно в механизме активации аденилатциклазы, хотя недостаточно ясна точка его приложения.

Для одних гормонов, опосредующих свое действие через  $\alpha$ -АМФ, в частности для глюкагона, кальций подавляет процесс связывания с рецептором, и его удаление из среды не приводит к изменению стимулирующего действия данного гормона на аденилатциклазу. Для других в среде без кальция активирующий эффект полностью снимается (АКТГ).

Наиболее вероятным кажется то, что в отношении действия белковых гормонов кальций необходим на этапе между связыванием с рецептором и активацией аденилатциклазы.

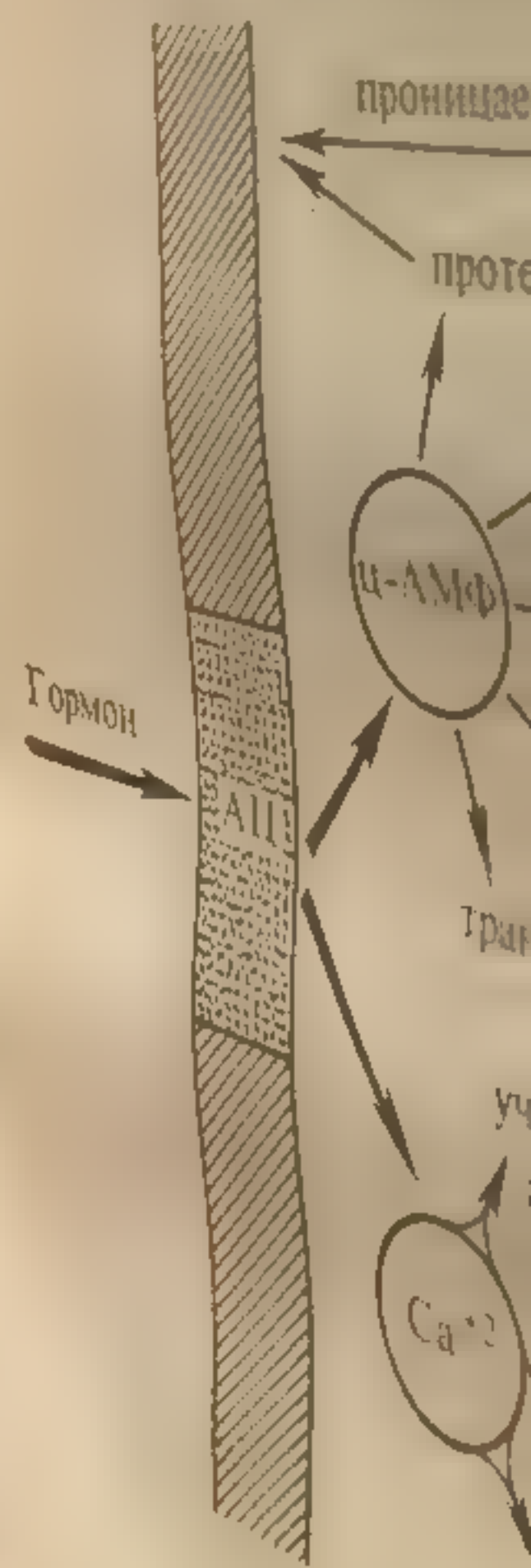
**Некоторые особенности механизма действия инсулина.** Инсулин, в отличие от других белково-пептидных гормонов, снижает уровень  $\alpha$ -АМФ в клетке, хотя было обнаружено активирующее действие инсулина на аденилатциклазную систему в мозге и культуре печени крыс (не исключено, что последнее было вызвано «парадоксальным» эффектом больших доз инсулина).

Характерно, что не влияя на базальную активность аденилатциклазы, инсулин заметно подавляет стимулирующее влияние на нее некоторых активаторов — адреналина, глюкагона, АКТГ, фторид натрия и др. Экспериментально подтверждена выдвинутая ранее гипотеза относительно действия инсулина путем активации фосфодиэстеразы и ускорения, таким образом, гидролиза  $\alpha$ -АМФ. Однако возможно, что ряд эффектов инсулина на клеточный метаболизм, например утилизация глюкозы, может происходить и без опосредования через аденилатциклазную систему.

Необходимо также отметить, что данная система вовлечена в качестве медиаторной в механизм действия большого числа других биологически активных веществ. Сюда относятся простагландины, катехоламины, кинины, пуриновые производные и др. Все это говорит об универсальной роли данной системы в механизме регуляции внутриклеточного метаболизма. Различия в точках приложения и, таким образом, в механизме влияния некоторых веществ на внутриклеточный уровень  $\alpha$ -АМФ приведены в табл. 21.

|                                   |                           |
|-----------------------------------|---------------------------|
| Повышение уровня АМФ внутри клет. | Активация аденилатциклазы |
| Понижение уровня АМФ внутри клет. | Активация эстеразы        |

$\alpha$ -АМФ — вторичный медиатор гормонального действия в регуляции практически всех



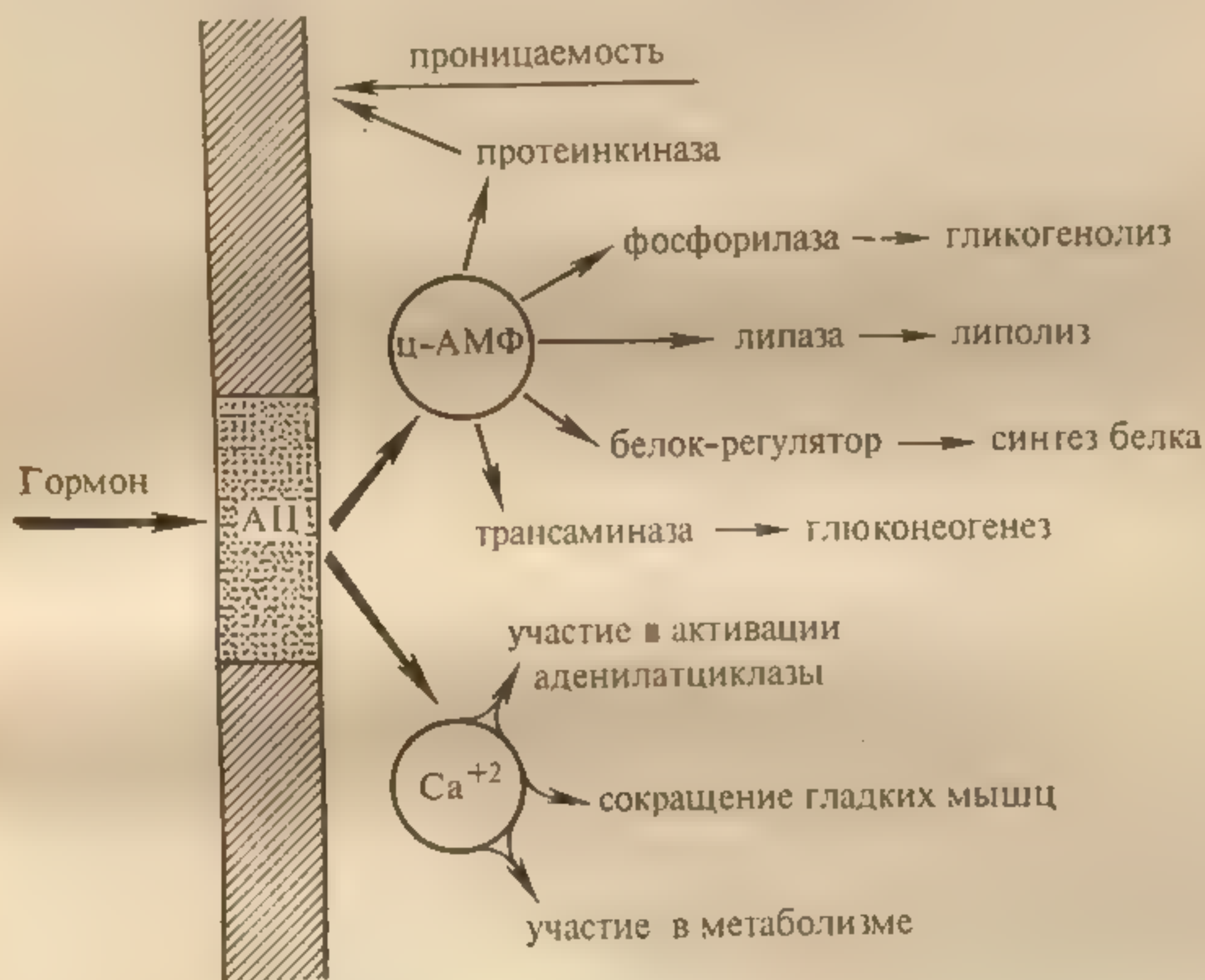
Повышение его внутриклеточной концентрации приводит к изменению характера ответа определяется характером системы. На самом деле  $\alpha$ -АМФ происходит опосредованным путем, который катализируют ферменты, которые являются безактивных субстратов по



Таблица 21

| Эффект                                       | Механизм                      | Вещество  |
|--|-------------------------------|---|
| Повышение уровня $\alpha$ -АМФ внутри клетки | Активация аденилат-циклазы    | Гормоны гипофиза, простагландины, катехоламины, кинины, галогеноиды |
|  | Ингибирование фосфодиэстеразы | Производные пуринового ряда (кофеин, теofilлин), цитрат, пирогосфат |
| Понижение уровня $\alpha$ -АМФ внутри клетки | Активация фосфодиэстеразы     | Инсулин, опиаты, эндорфины  |

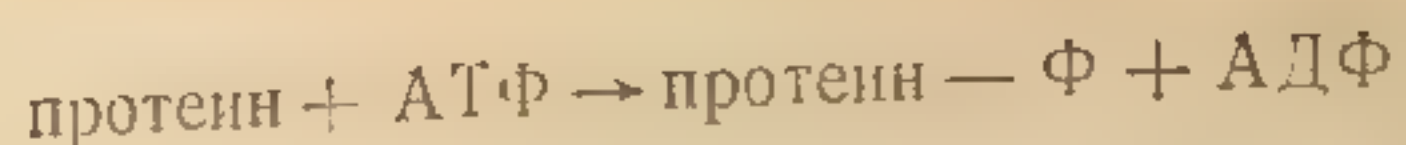
$\alpha$ -АМФ — вторичный медиатор гормональной активности.  $\alpha$ -АМФ принимает участие в регуляции практически всех метаболических путей клетки:



Повышение его внутриклеточной концентрации обуславливает начало множества ферментативных взаимопревращений и выражается в ответе клетки как целого, где характер ответа определяется эволюционно закрепленной спецификой функционирования клетки.

Однако не все так просто в механизме влияния  $\alpha$ -АМФ на внутриклеточные ферментные системы. На самом деле активация или ингибирование ферментов  $\alpha$ -АМФ происходит опосредованным путем — через систему так называемых протеинкиназ, которые катализируют перенос фосфатной группы с АТФ на аминокислоты белковых субстратов по типу реакции



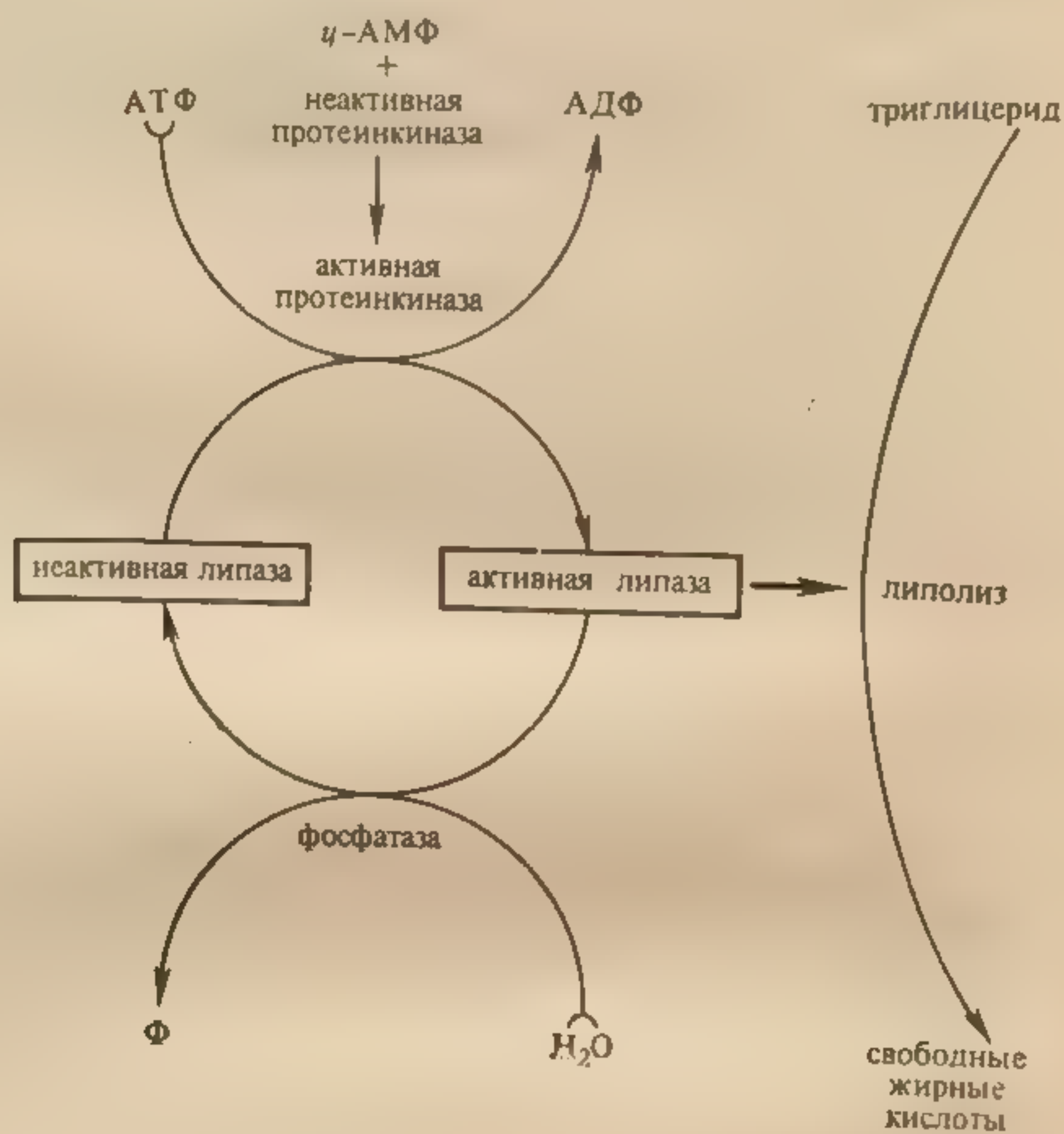


Происходящее при этом специфическое фосфорилирование ферментативного белка приводит к агрегации его субъединиц и, таким образом, к изменению ферментативной активности.

Считается, что протеинкиназа состоит из двух субъединиц: каталитической и рецепторной. Рецепторная субъединица выполняет двойную функцию: имеет сродство к  $\zeta$ -АМФ (отсюда и название — рецепторная) и является ингибитором каталитической субъединицы. Связывание  $\zeta$ -АМФ с рецепторной субъединицей приводит к диссоциации протеинкиназного комплекса с высвобождением активного компонента.

Исходя из представления о механизме действия  $\zeta$ -АМФ, как об опосредованном через системы протеинкиназ, реализацию его гликолитической и липолитической активностей можно схематично показать следующим образом (схема 9, 10).

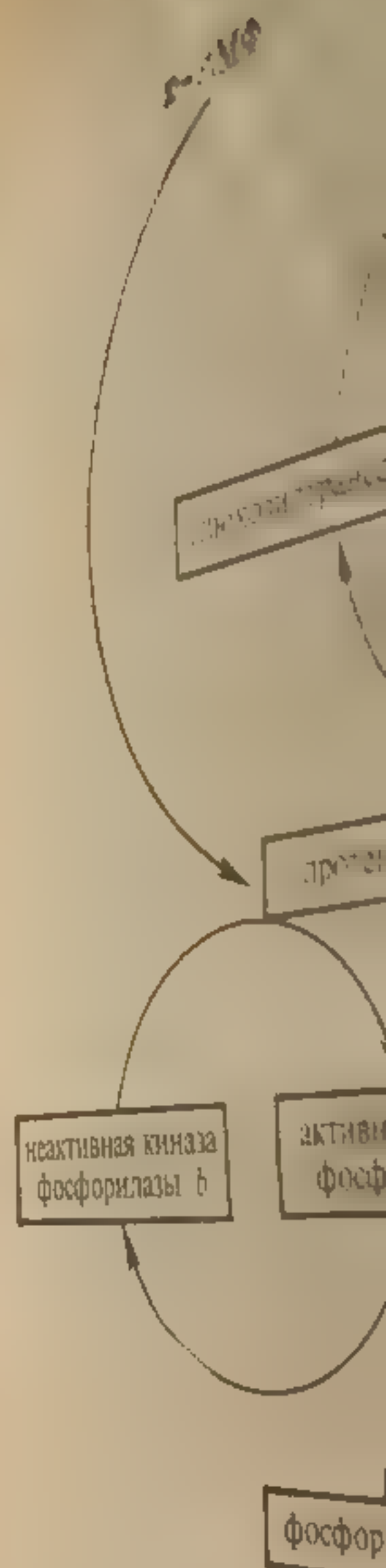
Схема 9



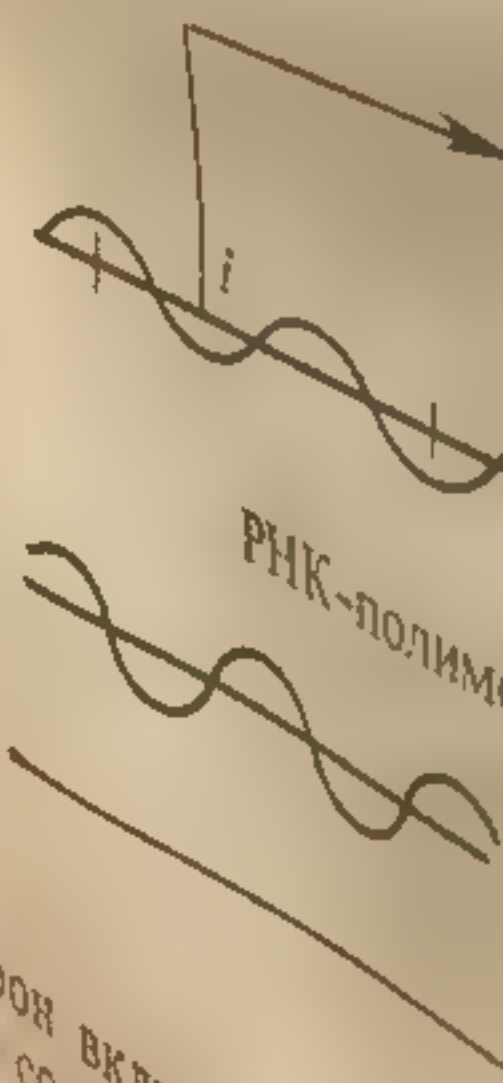
Наиболее сложный — процесс реализации гликолитической активности  $\zeta$ -АМФ, поскольку он включает в себя дополнительную ферментную систему: киназу фосфорилазы «в», а также участие той же протеинкиназы в торможении синтеза гликогена путем перевода глюкозилтрансферазы G в глюкозилтрансферазу D.

Аналогичный механизм (фосфорилирование белков) лежит и в основе изменения проницаемости мембран под действием  $\zeta$ -АМФ для воды и ионов.

Наряду с описанным путем влияния на внутриклеточный метаболизм — посредством протеинкиназного фосфорилирования ферментных белков и таким образом изменения их активностей —  $\zeta$ -АМФ способен изменять скорость синтеза внутриклеточных ферментов. Рассмотрим механизм данного действия на примере lac-оперона, ответственного за синтез  $\beta$ -галактозы,  $\beta$ -галактозидпермеазы и  $\beta$ -галактозидтрансацилазы (Н. Г. Преображенская, А. М. Юркевич, 1973).



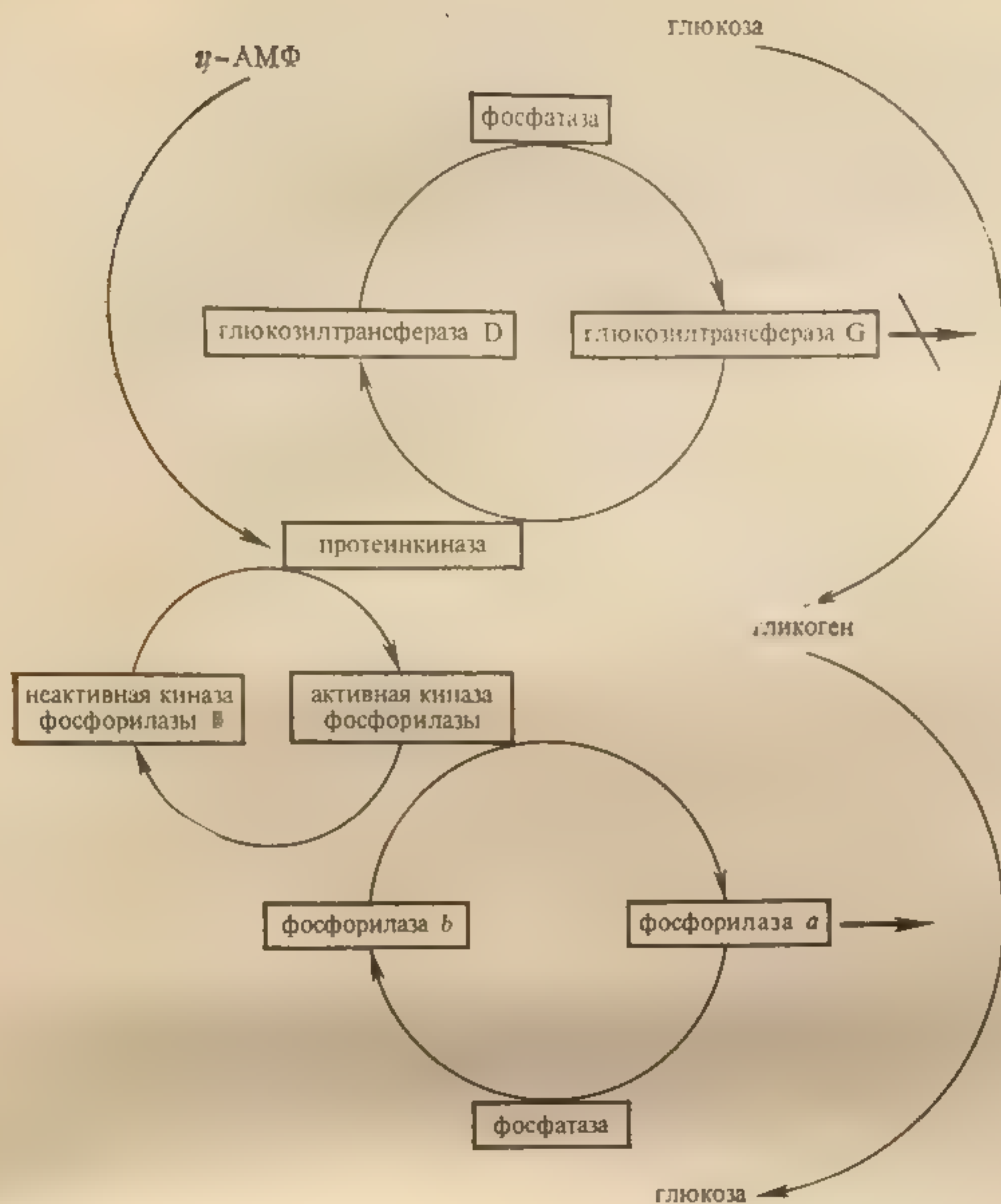
Как показано ниже,



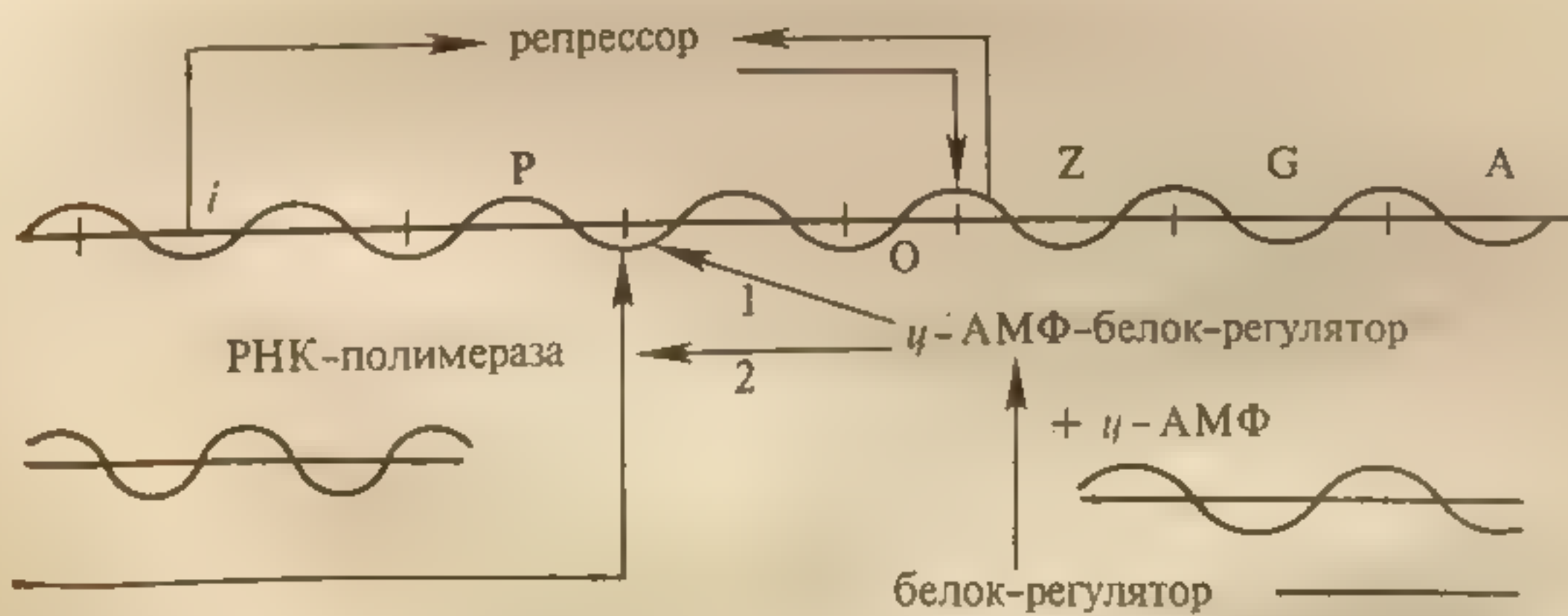
lac-оперон включает в себя следующие соответствующие Z, S, на протекает следующим образом. Оперон высвобождается и



Схема 10



Как показано ниже,



lac-оперон включает в себя структурные гены для этих трех ферментов, обозначенных соответственно Z, G, A, промотор (p) и оператор (o). Работа lac-оперона протекает следующим образом. При появлении лактозы — индуктора синтеза белков — происходит инактивация блокировавшего оператор белка-репрессора. Оперон высвобождается и позволяет РНК-полимеразе связаться с промотором.



Начинается транскрипция — синтез информационной РНК. иРНК переносится на рибосомы, где осуществляется трансляция — синтез белка.  $\alpha$ -АМФ оказывает свое действие на работу  $\lambda$ -оперона на уровне транскрипции путем связывания со специфическим белком-регулятором, который, как предполагают, также представляет собой  $\alpha$ -АМФ-зависимую протеинкиназу. Связывание  $\alpha$ -АМФ с белком-регулятором приводит к воздействию на промотор, поскольку белок-регулятор имеет сродство к ДНК, возрастающее в присутствии  $\alpha$ -АМФ (направл. 1), а также происходит фосфорилирование  $\lambda$ -фактора РНК-полимеразы, что приводит к ее активации (направл. 2).

Подобным же образом  $\alpha$ -АМФ стимулирует работу  $gal$ -оперона, отвечающего за синтез УДФ-галактозо-4-эпимеразы, галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы и галактокиназы. В то же время  $\alpha$ -АМФ способен контролировать синтез ряда белков на уровне трансляции путем фосфорилирования рибосомального белка. Сюда относятся белки коры надпочечника, некоторые гормоны гипофиза, триптофаназа.

Несмотря на принципиальное отличие этих двух возможных путей влияния  $\alpha$ -АМФ на внутриклеточные процессы — изменение активности уже имеющихся ферментов и изменение скорости их синтеза, следует обратить внимание на схожесть в механизме реализации активности  $\alpha$ -АМФ, что очень важно с общетеоретической точки зрения, а именно на его опосредованный характер или, как еще называют данный феномен, «ферментную каскадность» процессов. Особенно наглядно это видно на примере активации гликолиза в клетке, где наблюдается целая цепочка ферментативных превращений (схема 10).

Физиологическое значение данной «каскадности» становится понятным, если вспомнить, что  $\alpha$ -АМФ — эволюционно выработанный регулятор функционирования клетки как целостной живой системы. Его основная задача — обеспечивать сохранение постоянства внутренней среды системы на фоне изменяющихся внешних условий путем мобилизации компенсаторных сил клетки. Для сохранения жизнеспособности необходимо быть готовым к тому, что внешнее воздействие может быть экстремальным как по силе однократного приложения, так и по скорости изменения. Поэтому и компенсаторная система должна быть соответственно мощной и в то же время лабильной в смысле управления. Все это и обуславливает наличие «каскадного» характера в регуляции  $\alpha$ -АМФ активности ферментов. Во-первых, усиление в подобной системе может происходить последовательно на каждом катализируемом этапе, а поскольку катализатором для последующей реакции служит продукт предыдущих реакций, то конечный выход может многократно превосходить таковой в случае непосредственного воздействия  $\alpha$ -АМФ на последний фермент системы. Во-вторых, как предполагается, с протеинкиназой связано только 10—20%  $\alpha$ -АМФ, а это значит, что для активации достаточно даже сравнительно небольшого увеличения внутриклеточной концентрации нуклеотида и в то же время не затрудняется потенциальная возможность работы фосфодиэстеразы по инаktivации  $\alpha$ -АМФ с возвращением его концентрации на исходный уровень.

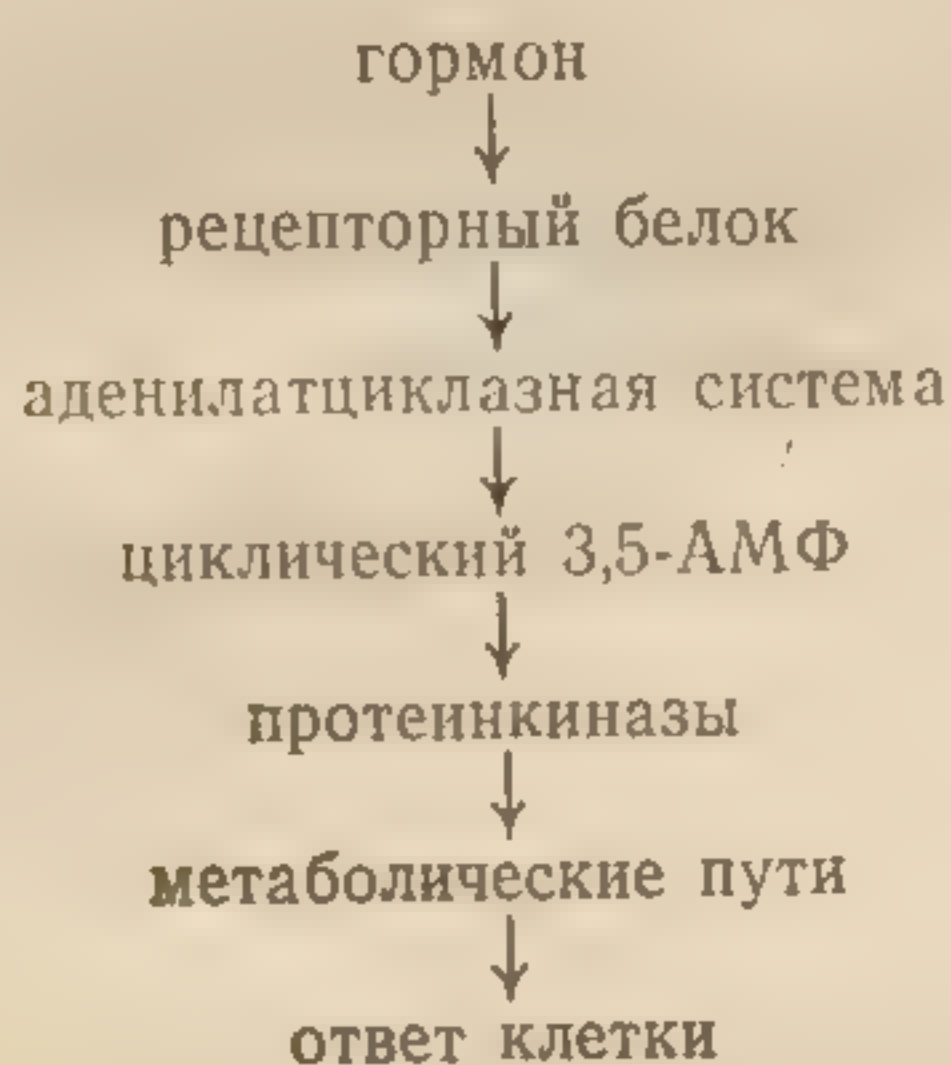
Связываясь со специфическими рецепторными белками плазматических мембран, гормоны посредством аденилатцикласной системы изменяют уровень внутриклеточного  $\alpha$ -АМФ, который потенциально способен вмешиваться в вышеперечисленные метаболические пути клеток. Конечный же эффект под действием гормона всецело определяется эволюционно закрепленной физиологической специализацией той клетки, с которой связывается данный гормон. Так, АКТГ при взаимодействии с жировой клеткой и клеткой надпочечника вызывает в конечном счете различные эффекты: в одном случае липолиз и выброс в кровь жирных кислот, в другом — синтез кортикостероидов; но все это посредством одного и того же молекулярного механизма — активации аденилатциклазы и увеличения концентрации  $\alpha$ -АМФ внутри клеток.

#### § 4. Влияние белков на активность АТФ плазматической мембраны

Процесс взаимодействия биологически активных веществ не ограничивается лишь изометрической системой. Плазматическая мембрана, состоящая из функциональных комплексов, способна изменять свое состояние и другие вещества с мембраной. Ферменты, входящие в состав плазматической мембраны, могут также опосредованно влиять на активность ферментов плазматической мембраны. Несмотря на то, что данный процесс имеет свою специфику, он осуществляется путем опосредованного действия гормонов. АТФ-азы, активные плазматической мембраны, включают в себя ферменты, участвующие в фосфорилировании. Фосфорилирование происходит в результате действия АТФ-азы (Л. Н. Райхман и Ю. Л. Фосфорилирование происходит в результате действия АТФ-азы).



Таким образом, рассмотренный участок цепи регуляции внутриклеточного метаболизма и гомеостаза белково-пептидными гормонами можно схематически изобразить следующим образом:



#### § 4. Влияние белково-пептидных гормонов на активность АТФ-аз и 5'-нуклеотидазы плазматических мембран

Процесс взаимодействия белково-пептидных гормонов и других биологически активных веществ с плазматическими мембранами не ограничивается лишь изменением функционирования аденилатциклазной системы. Плазматическая мембрана — сложная морфофункциональная система, содержащая в себе большое количество ферментных комплексов, степень активности которых определяется физико-химическим состоянием мембраны. Поэтому возникающие локальные изменения данного состояния при взаимодействии гормонов и других веществ с мембраной могут вовлекать в процесс и другие ферменты, входящие в область структурных изменений мембран. Возможен также опосредованный путь изменения активности ферментов плазматических мембран клеток, а именно, через  $\alpha$ -АМФ. Несмотря на то, что данный механизм относится к реакциям непосредственно самого  $\alpha$ -АМФ, его имеет смысл рассмотреть, учитывая особую специфическую роль плазматических мембран в функционировании клеток.

Именно путем опосредования происходит регуляция активности белково-пептидными гормонами одного из энергозависимых транспортных ферментов плазматических мембран  $[(Na^+ + K^+) - АТФ-азы]$ . АТФ-аза, активируемая ионами  $Na^+$  и  $K^+$ , состоит из субъединиц (Л. Н. Райхман и Ю. Ш. Мошковский, 1974), и процесс ее функционирования включает две основные стадии: образование фосфорилированной формы фермента при участии ионов  $Na^+$  с последующим дефосфорилированием, катализируемым ионами  $K^+$ . Фосфорилирование происходит по карбоксильной группе глутами-



новой кислоты, которая находится между субъединицами и обуславливает частичную их диссоциацию. Эти процессы сопровождаются конформационными изменениями мембранных структур, связанных с АТФ-азой, которые и лежат в основе активного транспорта ионов через мембрану.

В поддержании определенной конформации АТФ-азы и ее способности реагировать на воздействие различных веществ важную роль играет двойной фосфолипидный слой, поскольку обработка мембран фосфолипазами А и С приводит к значительной инактивации фермента и его реакционной способности. Таким образом, наблюдается взаимосопряженное соотношение между АТФ-азой и структурными элементами мембраны.

Глюкагон и адреналин оказывают ингибирующий эффект на  $(Na^{+}+K^{+})$ -АТФ-азу, который полностью предотвращается инсулином в случае адреналина и частично в случае глюкагона, хотя сам инсулин не влиял на активность АТФ-азы. Одновременно ингибирование фермента происходит и при исследовании влияния  $\alpha$ -АМФ, из чего авторы предположили его опосредующую роль в механизме действия гормонов на АТФ-азу.

Не менее важным, но до сих пор недостаточно изученным, является вопрос, связанный с влиянием белково-пептидных гормонов на активность такого мембрансвязанного фермента, как 5'-нуклеотидаза, включенного как составная регуляторная часть в один из важнейших аспектов функционирования клетки (в метаболизм нуклеиновых кислот) и катализирующего реакцию гидролиза 5-АМФ до аденозина и неорганического фосфата.

Было показано, что степень активности фермента находится в определенной отрицательной взаимосвязи с интенсивностью клеточного метаболизма. Так, изучение нормальных и опухолевых тканей крыс и мышей показало, что высокая активность 5'-нуклеотидазы сопровождалась низким содержанием в клетках РНК и малым включением тимидина в ДНК, тогда как низкая активность 5'-нуклеотидазы наблюдалась на фоне достаточно высокого содержания РНК и включения в ДНК тимидина. Низкая активность 5'-нуклеотидазы также наблюдалась в регенерирующей печени в фазе роста и в плазматических мембранах, выделенных из клеток гепатомы крыс, по сравнению с нормальными гепатоцитами. Это дало основание назвать 5'-нуклеотидазу ферментом «деградации» (Goldberg, 1973).

Как и в случае других ферментов, степень активности 5'-нуклеотидазы практически полностью определяется состоянием мембраны и характером связи с мембранными структурными элементами, особенно с фосфолипидами. Причем создается впечатление, что связь фермента с мембраной несет на себе «функции подавления» его активности, поскольку при обработке препаратов мембран веществами, приводящими к солюбилизации 5'-нуклеотидазы, наблюдается значительное повышение активности фермента. Подобные результаты были получены и при изучении действия рентгеновского облучения на активность 5'-нуклеотидазы плазматических мембран, где



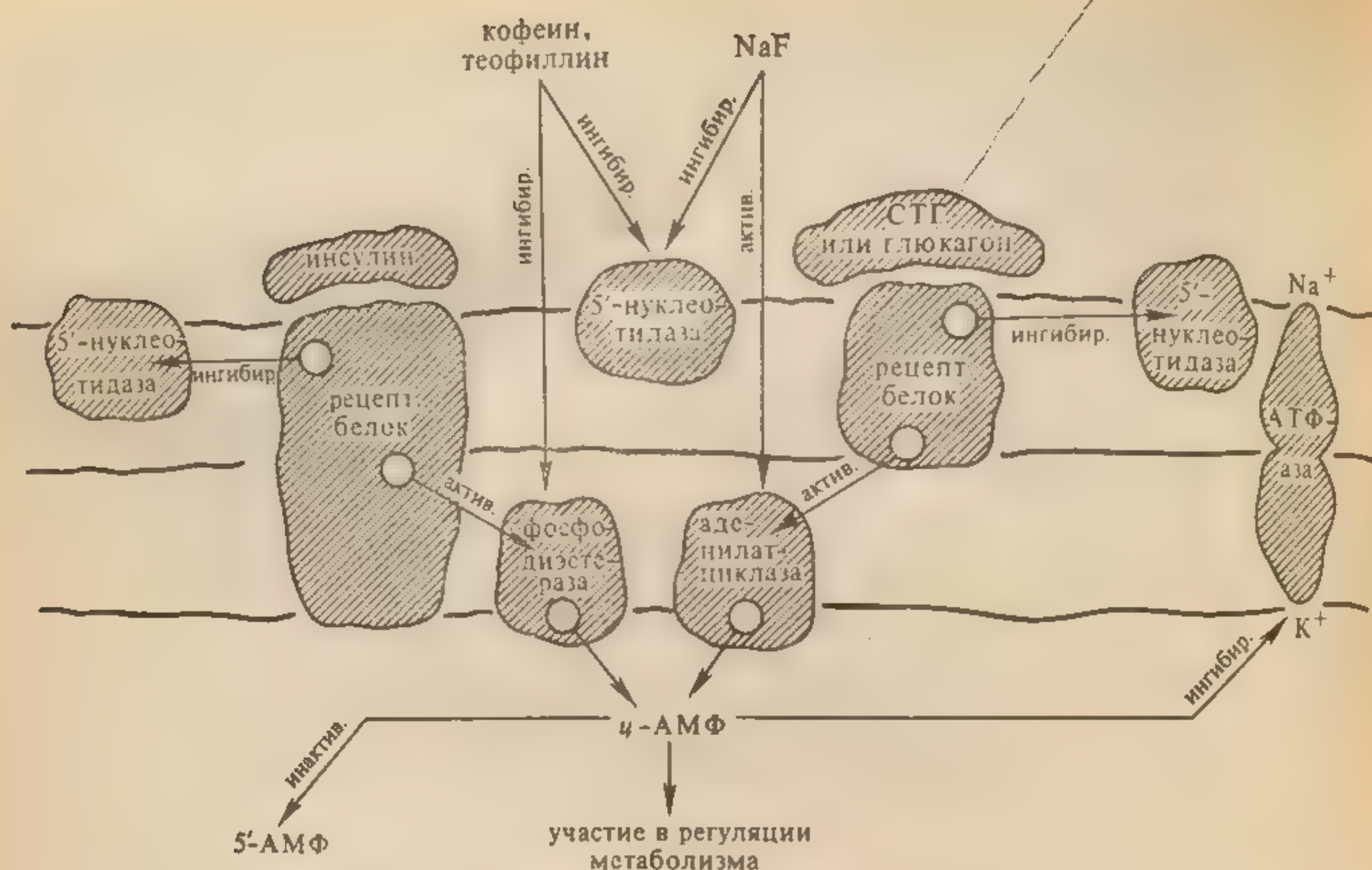
одним из возможных механизмов данного феномена считалось высвобождение фермента вследствие повреждения мембран. Биологический смысл данного взаимоотношения активности 5'-нуклеотидазы с характером связи с мембраной вполне понятен, если исходить из определения 5'-нуклеотидазы как фермента «деградации».

Как уже говорилось, 5'-нуклеотидазный ответ плазматических мембран при взаимодействии с ними гормонов и некоторых других биологически активных веществ изучен далеко не полностью. Но уже сейчас можно говорить, что активаторы аденилатциклазы ингибируют активность 5'-нуклеотидазы. Так, в работах Bosmann et al. (1971), Bastomsky et al. (1974) и ряде других сообщалось об ингибирующем действии NaF и теофиллина на ферментативную активность в препаратах клеток спинного мозга кошек и мышей, головного мозга мышей, мозжечка и щитовидной железы крыс. Проведенные исследования по изучению влияния СТГ, глюкагона, NaF и кофеина на активность 5'-нуклеотидазы плазматических мембран клеток печени крыс также показали, что эта группа веществ обладает выраженным ингибирующим действием в отношении данного фермента. Интересно, что инсулин, как и в случае аденилатциклазной системы, оказывал противоположный указанным веществам эффект на 5'-нуклеотидазную активность.

Естественно, можно было предположить, что механизм действия данных веществ на 5'-нуклеотидазу вовлечен  $\alpha$ -АМФ как опосредующее звено, тем более, что сам  $\alpha$ -АМФ оказывает выраженное ингибирующее действие на ферментативную активность. Однако, несмотря на очевидную связь влияния СТГ, глюкагона, NaF, кофеина и инсулина на активность 5'-нуклеотидазы с их способностью изменять внутриклеточный уровень  $\alpha$ -АМФ, кажется сомнительной правомерность рассмотрения опосредующей роли  $\alpha$ -АМФ в действии гормонов и других циклазергических веществ на данный фермент. Во-первых, в среде проб отсутствовал субстрат для реакции аденилатциклазы — АТФ и, таким образом, исключалась возможность образования  $\alpha$ -АМФ при действии СТГ на мембрану и, во-вторых, необходимо учитывать, что аденилатциклаза располагается на внутренней поверхности мембраны, а 5'-нуклеотидаза — на внешней, в то время как  $\alpha$ -АМФ плохо проникает через мембрану и быстро разрушается фосфодиэстеразой. Однако проведенные исследования по действию  $\alpha$ -АМФ на 5'-нуклеотидазу говорят, что экзогенный  $\alpha$ -АМФ — достаточно выраженный ингибитор данного фермента, и еще раз обращают внимание на важную эволюционную роль  $\alpha$ -АМФ, особенно в жизнедеятельности одноклеточных и простейших.

Таким образом, не только аденилатциклаза, но и такие ферменты, как  $(Na^+ + K^+)$ -АТФ-аза и 5'-нуклеотидаза, вовлечены в ответ плазматических мембран клеток при связывании с ними гормонов и некоторых других веществ. Обобщение этого дано на схеме, где показано влияние инсулина, СТГ, глюкагона, фторида натрия и кофеина на мембрансвязанные ферментные системы гепатоцита:





Наблюдаемая противоположность действия инсулина по отношению к СТГ, глюкагону, NaF, кофеину и некоторым другим веществам на функционирование аденилатциклазной системы, 5'-нуклеотидазы, а также  $(Na^+ + K^+)$ -АТФ-азы, позволяет предположить принципиальное различие вызываемых данными веществами структурных изменений в мембране, но в то же время общность механизмов реализации активности для каждого отдельного вещества в отношении всех мембранных ферментов. Другими словами, каждое вещество при взаимодействии с мембраной вызывает определенные, характерные для него структурные изменения, которые и обуславливают функциональную перестройку ферментных систем, имеющих закрепленный стереотип ответа на данные изменения.

## § 5. Связь химической структуры белково-пептидных гормонов с их биологическим действием

Первые попытки выявить взаимосвязь между структурными особенностями белково-пептидных гормонов и их действием были предприняты Hofmann, который в 1962 г. показал, что из целого гормона можно выделить часть, которая будет функционировать хоть и менее эффективно, но подобно природному гормону. Данную часть аминокислотной последовательности он предложил называть «активным центром», предполагая, что именно в этой части гормона структурно представлена специфика его физиологической активности.

Однако дальнейшие работы показали, что одним только понятием «активного центра» невозможно исчерпать особенности структурной организации гормонов.

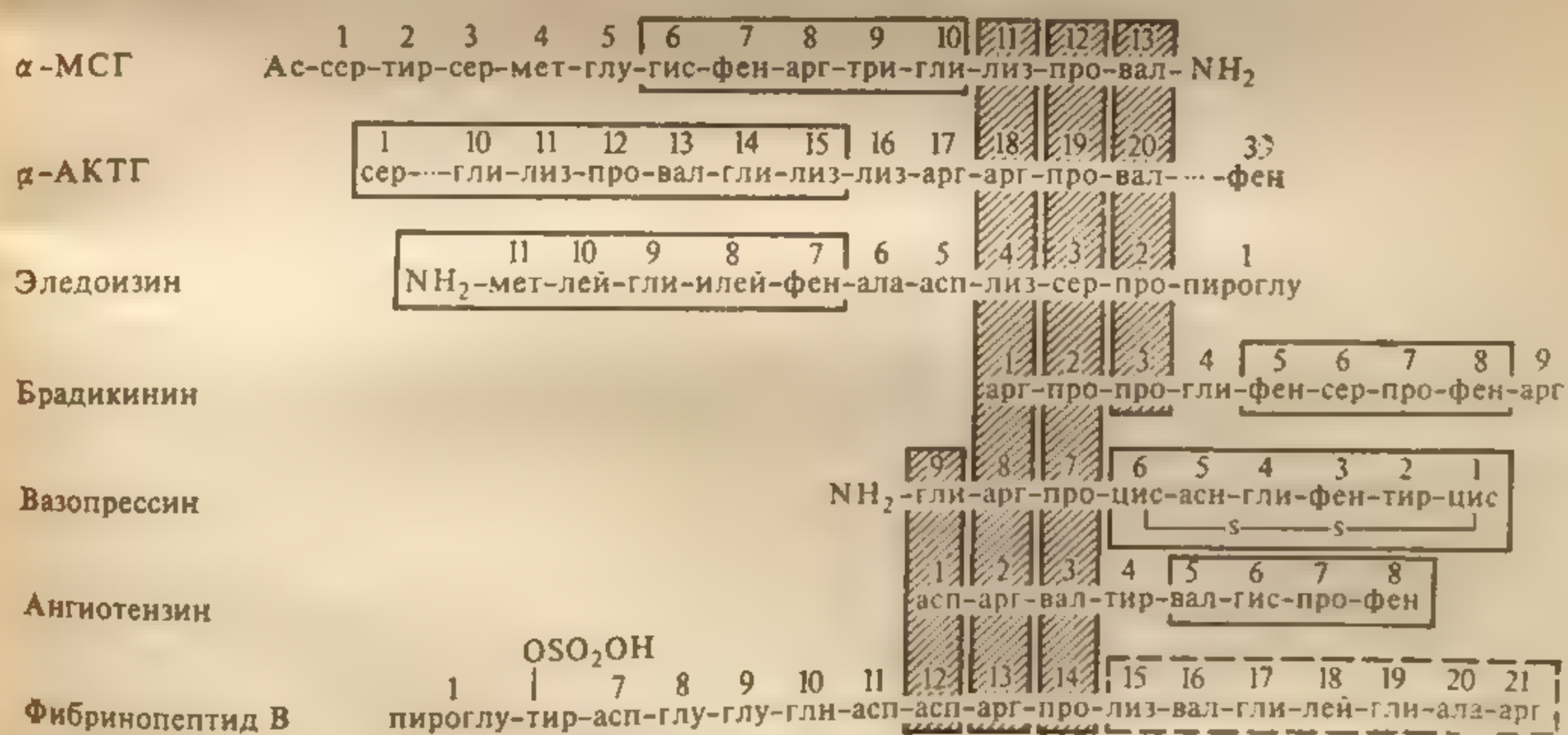
|                 |                     |    |    |   |
|-----------------|---------------------|----|----|---|
| 1-МСТ           | 1                   | 2  | 3  | 4 |
|                 | Ас-сер-тир-сер-мет- |    |    |   |
| 2-АКТГ          | 1                   | 10 | 11 |   |
|                 | сер-...гли-лиз-     |    |    |   |
| Элеонин         |                     |    |    |   |
| Брадикинин      |                     |    |    |   |
| Вазопрессин     |                     |    |    |   |
| Ангиотензин     |                     |    |    |   |
| Фибринопептид В |                     |    |    |   |
|                 | 1                   | 0  |    |   |
|                 | пироглу-ти          |    |    |   |

Фрагменты содержат рядом с которой на...  
...еще две подгруппы гли...  
...располагается гли...  
...кислотной группой. Больн...  
...с пролином содержала е...



Специфика процесса взаимодействия двух объектов с необходимостью должна отражаться в их строении. Следуя данной логической предпосылке, можно утверждать, что две особенности функционирования белково-пептидных гормонов — строгая органотропность и общность процесса передачи активности внутрь клетки — должны находить свое отражение в структурах гормонов и плазматических мембран. Причем нетрудно видеть, что наблюдаемые особенности [с одной стороны, специфичность, а с другой — универсальность (общий медиатор  $\zeta$ -АМФ)] логически взаимоисключающие, и их одновременное наличие как в строении плазматических мембран, так и гормонов возможно лишь, если они структурно разъединены, т. е. представлены различными структурными участками. Отсюда можно сделать вывод, что в строении гормона должно существовать два участка, обеспечивающих различные функции: один — ответственный за специфику, другой — за процесс передачи активности с гормона внутрь клетки, т. е. за изменение функционирования мембрансвязанных ферментных систем. А поскольку процесс передачи информации для всех гормонов вовлечен один и тот же фермент (аденилатциклаза), то и соответствующие участки должны быть структурно идентичными.

После коррелятивного анализа аминокислотной последовательности некоторых белково-пептидных гормонов и кининов было обращено внимание на то, что данные соединения содержат фрагменты, включающие от двух до пяти идентичных или сходных аминокислот:



Фрагменты содержат основную аминокислоту — аргинин или лизин, рядом с которой находится пролин. Кроме того, можно выделить еще две подгруппы гормонов, в которых рядом с основной кислотой располагается глицин или аминокислота со свободной карбоксильной группой. Большая часть гормонов обеих подгрупп рядом с пролином содержала еще второй остаток пролина или валина. Ав-



торы назвали эти участки «общими фрагментами» и заключили, что обнаруженные общие структурные фрагменты отражают определенную закономерность, поскольку статистическая вероятность нахождения двух одинаковых аминокислот, не говоря уже о трех и больше, в структурах различных пептидов незначительна.

Далее было показано, что «общие фрагменты» располагаются вблизи «активных центров» Гофмана, а исследование активности гормонов и кининов до и после присоединения «общего фрагмента» выявило повышение активности пептидов в тысячи раз. В рабочей гипотезе, выдвинутой авторами, предполагалось, что «активные центры» содержат в основном информацию об обеспечении специфичности гормон-рецепторного взаимодействия, а «общие фрагменты» — истинные активные центры гормонов, которые непосредственно участвуют в инициации физиологических реакций. Интересно, что трипептид (про-арг-гли- $\text{NH}_2$ ) усиливает действие уже циркулирующего гормона, в частности вазопрессина, хотя без последнего был неактивен, а пептид ( $\text{H}_2\text{CO}$ -арг-про-вал- $\text{NH}_2$ ) потенцирует действие АКТГ по критерию содержания аскорбиновой кислоты в надпочечниках.

Таким образом, в структуре молекул белково-пептидных гормонов можно выделить два функционально активных центра: «активные центры» Гофмана, обеспечивающие связывание гормонов с клетками, и «общие фрагменты», ответственные за обеспечение процесса передачи биологической активности гормонов внутрь клеток.

## ГЛАВА 10

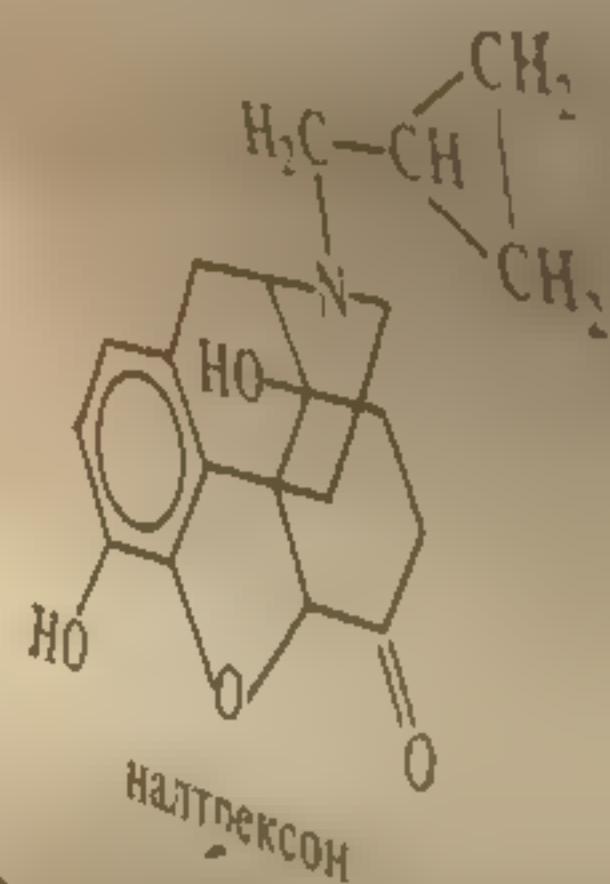
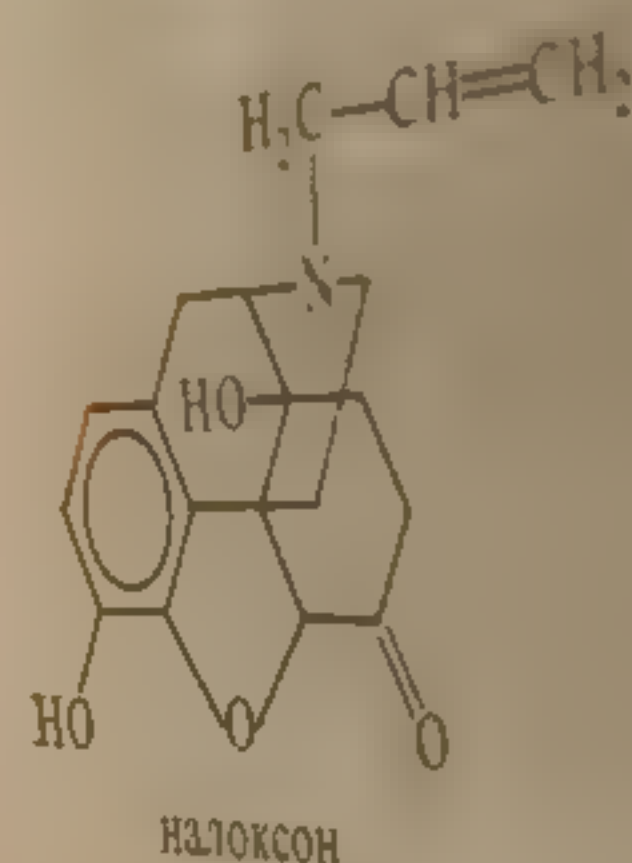
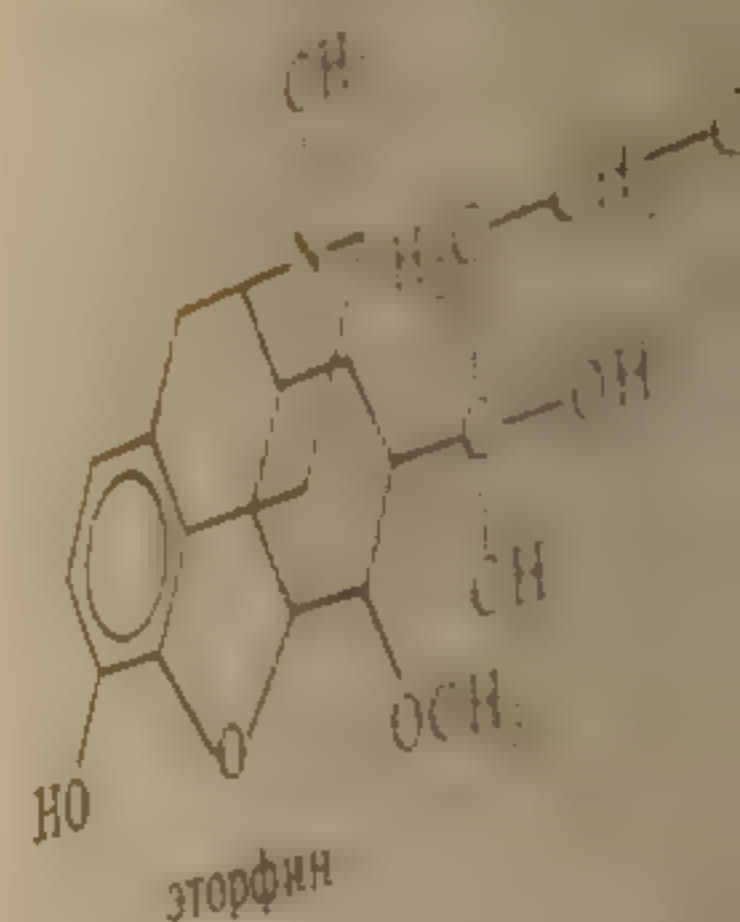
### НАРКОТИЧЕСКИЕ АНАЛЬГЕТИКИ

Наркотические анальгетики представляют собой средства, избирательно подавляющие болевую чувствительность без исключения сознания. Типичный представитель наркотических анальгетиков — морфин был выделен В. А. Сертиурнером из снотворного мака в 1806 г.

Анальгезирующее действие морфина и родственных ему соединений сопровождается эйфорией, что создает предпосылки для развития лекарственной зависимости, приводящей к тяжелому хроническому отравлению. Создание анальгезирующих средств, воздействующих на восприятие боли нервной системой подобно морфину, но не вызывающих в отличие от него лекарственной зависимости, составляет важную задачу медицинской науки.

#### § 1. Химическая структура

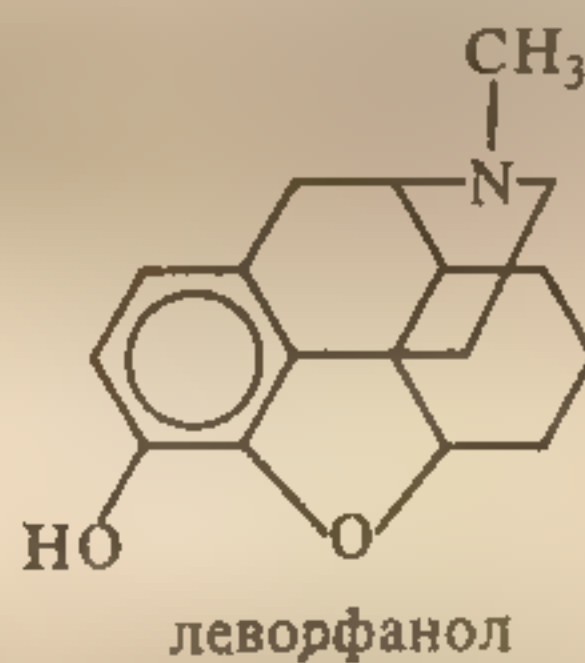
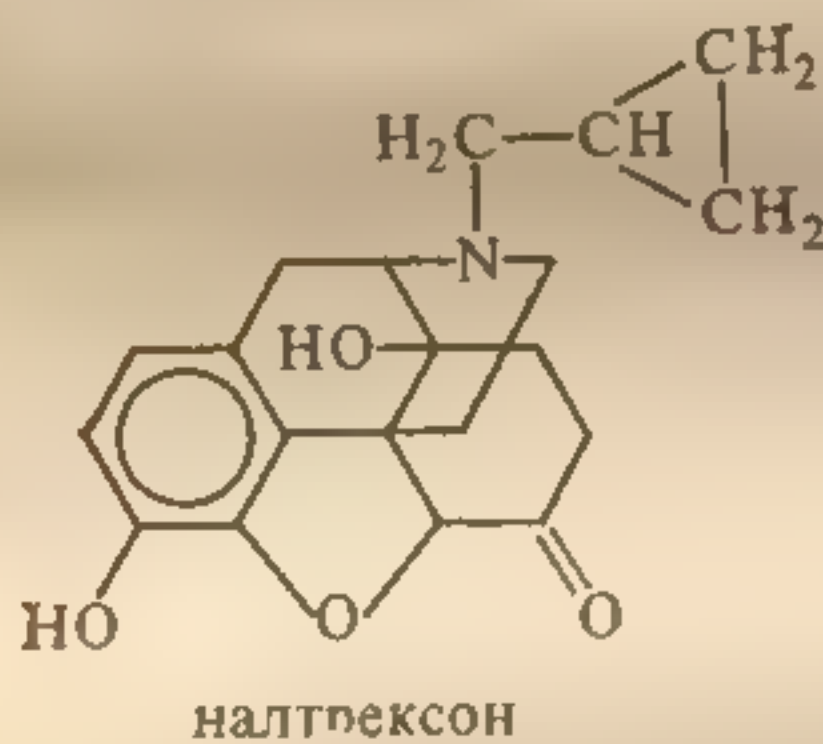
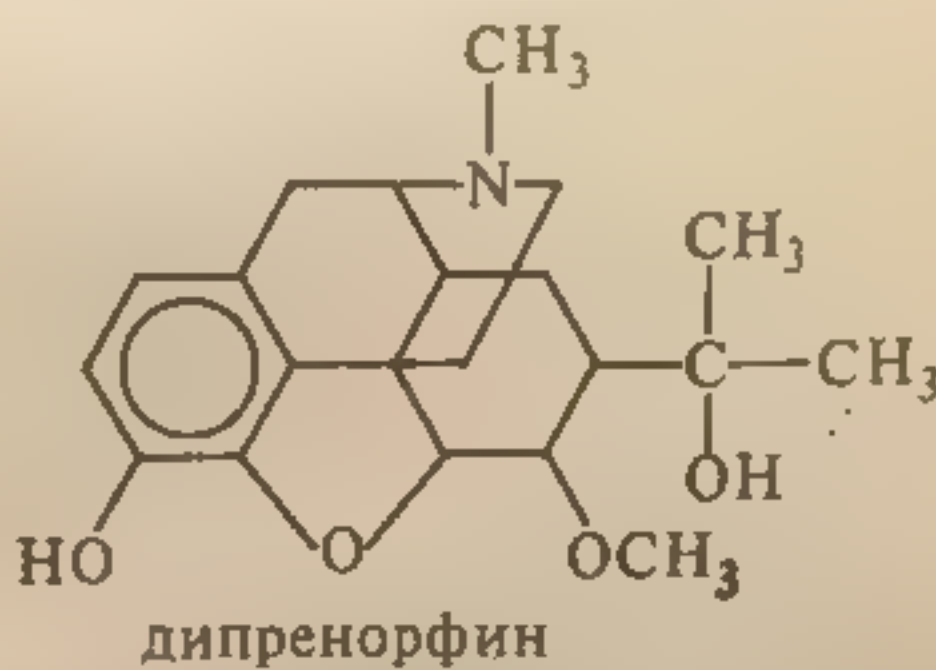
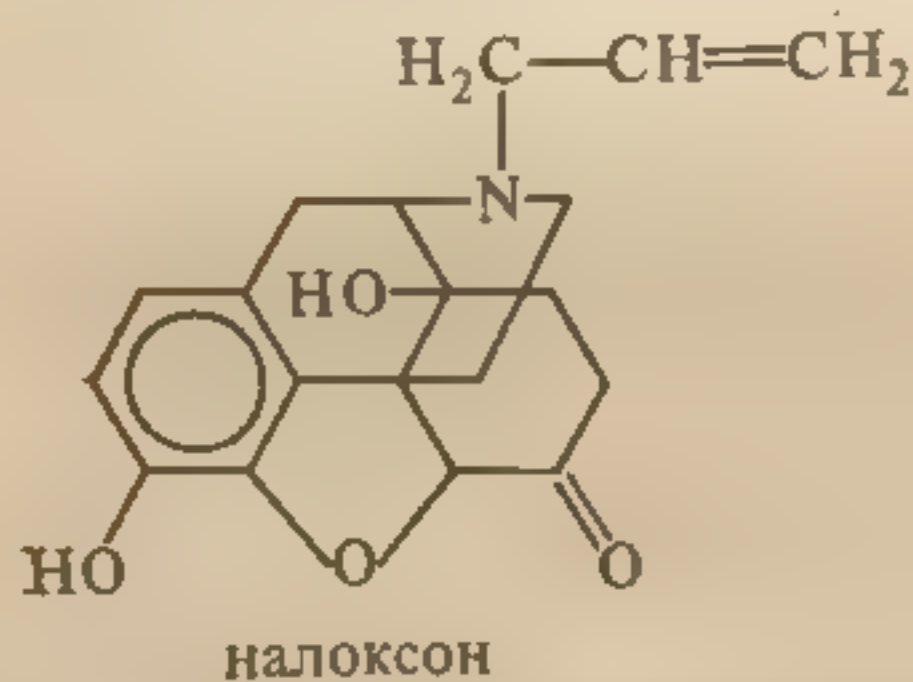
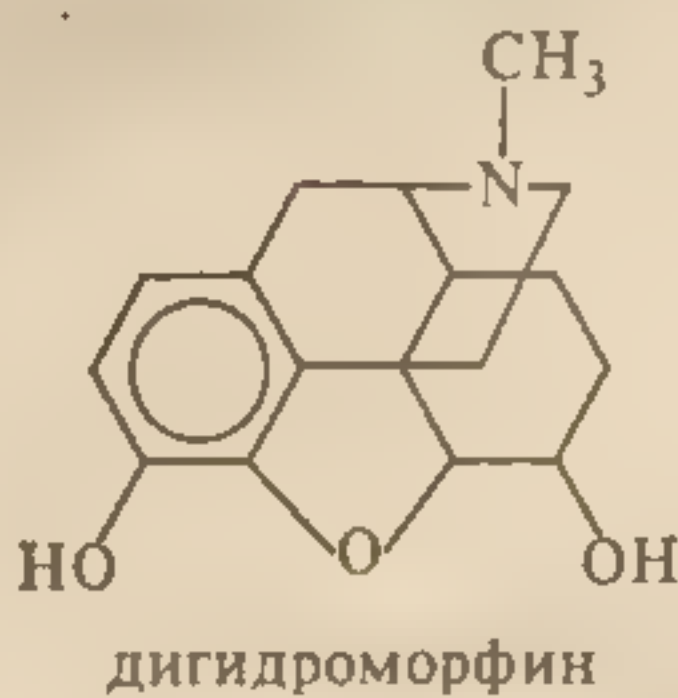
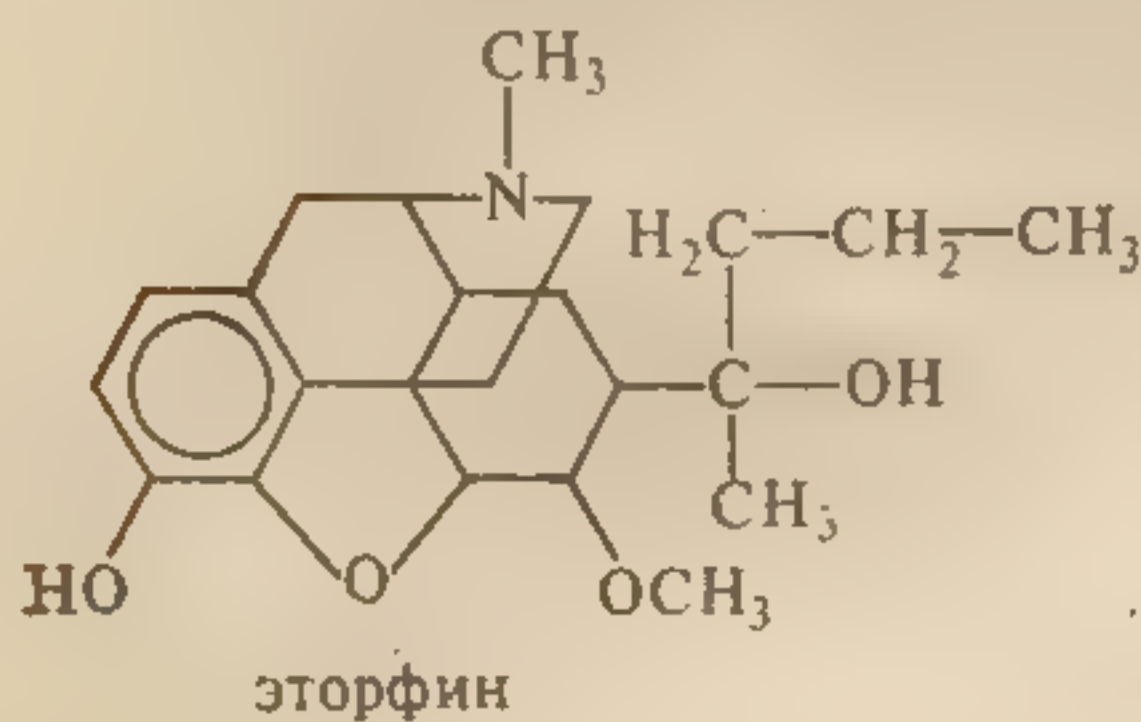
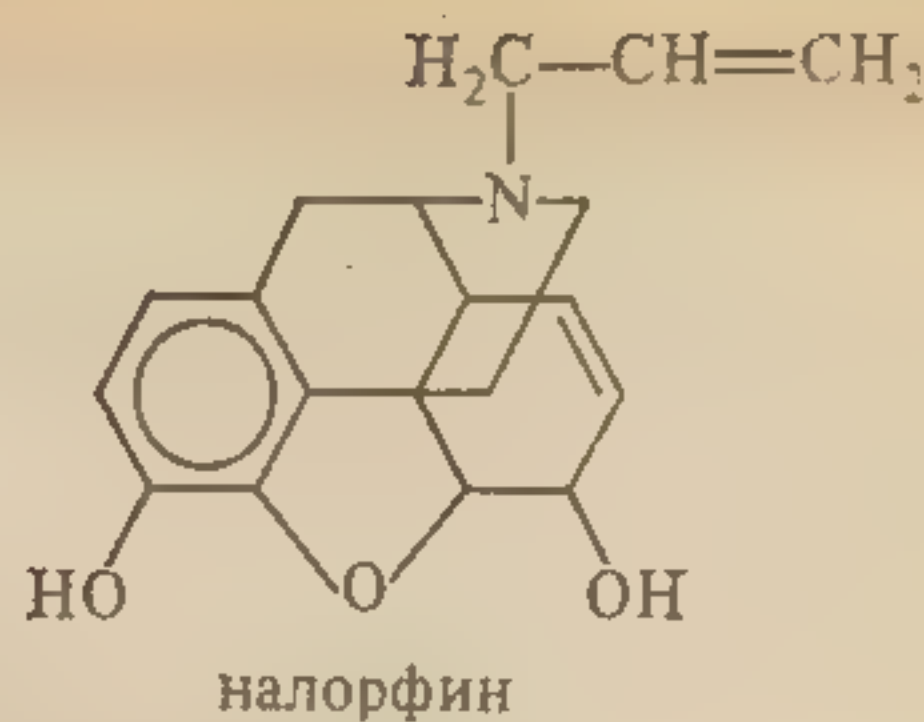
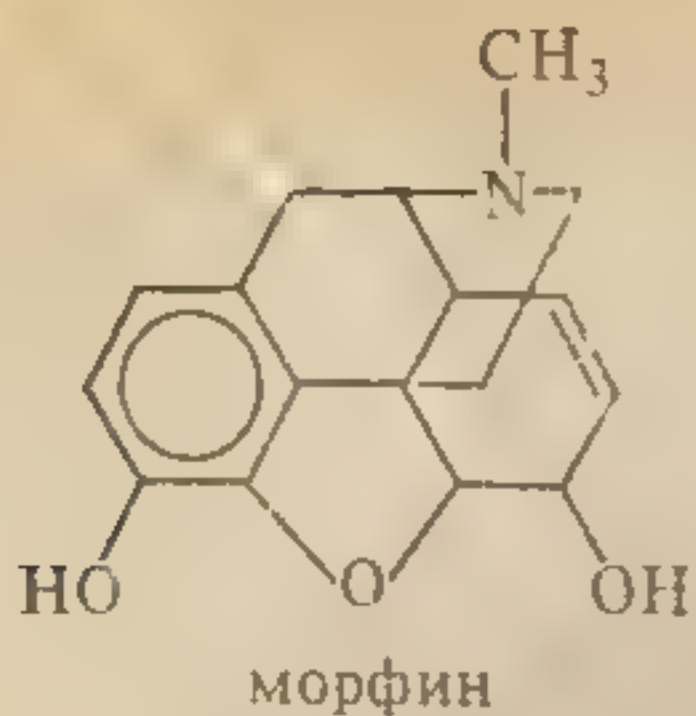
По химическому строению наркотические анальгетики и их антагонисты можно разделить на следующие группы: 1) производные пиперидинфенантрена:



2) производные фенилпиперидина — бензоморфана. Большинство наркотических анальгетиков циклической природы и имеет общую

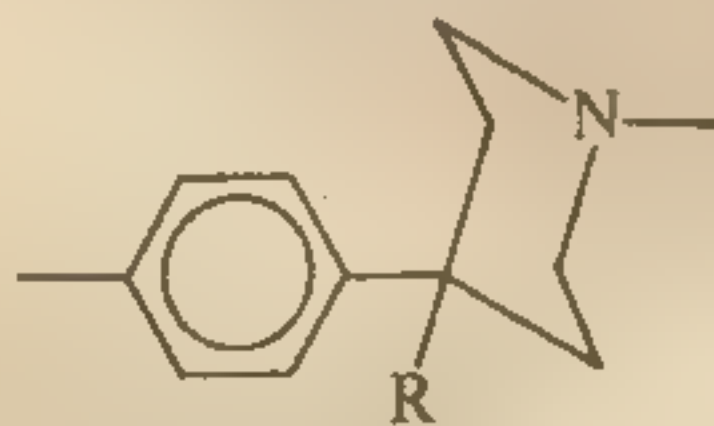
§ 2. Полагают, что фармакологические исследования — основа с определенным





2) производные фенилпиперидина; 3) производные гептанона; 4) производные бензоморфана.

Большинство наркотических анальгетиков принадлежит к соединениям полициклической природы и имеет общую группу:



## § 2. Механизм действия

Полагают, что фармакологические эффекты морфина — прямые или опосредованные — являются следствием взаимодействия морфина с определенными частями биомембран, называемыми морфи-



норецепторами. Отделить морфинорецепторы от структурных элементов биомембран и получить высокоочищенные препараты морфинорецепторов пока не удалось. Но в ходе исследований, направленных на решение этих задач, накоплено много важных сведений о свойствах морфинорецепторов, рассматриваемых в качестве объектов модели функционирования клеточных рецепторов, взаимодействующих с биогенными аминами, пептидами, аминокислотами — химическими передатчиками нервных импульсов. Прямая оценка воздействия на молекулярном уровне лекарственных средств на рецепторы, через которые осуществляются терапевтические эффекты, открывает новые возможности для рационального изыскания более совершенных по сравнению с существующими наркотических средств. Для целей скрининга при таком подходе нет необходимости в наработке больших количеств вновь синтезированных веществ.

Современные представления о том, что фармакологические эффекты алкалоидов опия опосредованы их воздействием на специфические морфинорецепторы, основаны главным образом на следующих фактах из области фармакологии морфина и родственных ему соединений.

1. Свойства алкалоидов опия вызывать анальгезирующий эффект у животных и человека в весьма низких дозах. Так, эторфин вызывает анальгезирующий эффект в дозах, которые были в 5 000—10 000 раз меньше соответствующих доз морфина.

2. Выраженная стереоспецифичность эффекта. Фактически вся фармакологическая активность морфина и родственных ему соединений обусловлена левовращающими (—)-изомерами.

3. Четкая зависимость химического строения структурных аналогов алкалоидов опия и их фармакологического действия. Фармакологические исследования многочисленных соединений в рядах производных морфина показали, что относительно небольшие изменения структуры молекулы алкалоидов опия (например, замена N-метильного заместителя на N-аллильный, N-циклопропильный или сходные группы) приводят к получению весьма мощных антагонистов морфина. Такие препараты, как налоксон или налтрексон, не действуют так, как действуют морфин или родственные ему по строению и фармакологическому эффекту соединения («агонисты»). Налоксон или налтрексон, относимые к числу так называемых «чистых антагонистов» морфина, не вызывают при введении в организм ни анальгезии, ни эйфории, но они предотвращают (или устраняют) фармакологическое действие морфина и других алкалоидов опия, даже если их дозы в 10—100 раз превосходят дозы антагонистов. Именно поэтому налоксон или налтрексон используют как спасающие жизнь больных противоядия при передозировках алкалоидов опия. Некоторые антагонисты морфина (например, налорфин), противодействуя эффекту алкалоидов опия, сами вызывают анальгезию. Такие антагонисты морфина называют «смешанными». Эти соединения также привлекают большой интерес исследователей, работающих над созданием анальгезирующих средств, не вызывающих эйфории с последующим развитием болезненного пристрастия

### § 3. Идентификация

Современные достижения в области исследования рецепторов для биогенных аминов (активных веществ) стали основой для преодоления значительных трудностей в препаратах биомембран. Для того чтобы рецепторы, необходимо осуществлять взаимодействие с активными атомами молекул, подходящих агонистов и антагонистов. Подобные меченые молекулы используются не только «специфически», в результате, по крайней мере, для исследования взаимодействия морфинорецепторов с нервными импульсами. Число рецепторов от 10 до 100 на одну клетку, что определяет сложность исследования. Стремясь создать условия для исследования специфического взаимодействия морфинорецепторов с другими компонентами мембраны, морфинорецепторы исследуют в мембранных пробах, с помощью специальных методов. В частности, помеченные морфинорецепторы исследуют с помощью радиоактивных меток (например,  $^3\text{H}$ ).



к ним. Однако, известные «смешанные» антагонисты морфина (в частности, налорфин) пока не нашли широкого применения в клинике для борьбы с болью, так как они вызывали побочные психотомиметические эффекты (тревогу) в дозах, которые были лишь немногим больше доз, необходимых для получения анальгезии.

Все реакции клетки на алкалоиды опия (или другие физиологически активные вещества) рассматривают как конечный результат двух процессов: 1) «узнавания» (связывания) рецепторами физиологически активных веществ; 2) изменения проницаемости биомембран для ионов или аналогичные изменения в результате связывания физиологически активных веществ с рецепторами. Неизвестно, опосредуют ли процессы узнавания и трансформации сигнала одни и те же молекулы, скорее всего эти молекулы непосредственно связаны между собой.

### § 3. Идентификация морфинорецепторов

Современные достижения в изучении морфинорецепторов (а также рецепторов для биогенных аминов и других физиологически активных веществ) стали возможными в результате успешного преодоления значительных методических трудностей. Для того чтобы в препаратах биомембран клеток мозга «пометить» морфинорецептор, необходимо осуществить его связывание с содержащими радиоактивные атомы молекулами либо самого морфина, либо одного из подходящих агонистов или антагонистов алкалоидов опия. Однако подобные меченые молекулы, взаимодействуя с клетками мозга, связываются не только «специфически» с морфинорецепторами. Значительная доля молекул алкалоидов опия (или других физиологически активных веществ) связывается с биомембранами «неспецифически», в результате, по-видимому, ионных притяжений, гидрофобных взаимодействий, вандерваальсовых сил. Плотность распределения морфинорецепторов и рецепторов для химических передатчиков нервных импульсов составляет в тканях мозга позвоночных величину от 10 до 100 пмоль/г, тогда как концентрация центров неспецифического связывания фактически бесконечна. Именно этим и определяются трудности, с которыми сталкивается исследователь, стремясь создать условия эксперимента, обеспечивающие максимальное специфическое связывание меченых молекул лигандов с морфинорецепторами при минимальном неспецифическом связывании с другими компонентами биомембран. Оказалось, что чем ниже концентрация морфина и родственных ему соединений в экспериментальных пробах, содержащих препараты биомембран мозга, тем менее выражено неспецифическое связывание, тем легче удастся специфически пометить морфинорецепторы. Поэтому методические затруднения, возникающие при изучении морфинорецепторов, удастся частично преодолеть, если использовать агонисты или антагонисты морфина, отличающиеся особенно высоким сродством к морфинорецепторам, и препараты алкалоидов опия, меченных атомами (например, тритием) с особенно высокой радиоактивностью.



В ходе скрининга для выявления свойства взаимодействовать с морфинорецепторами стремятся сопоставить левовращающие (—)-изомеры с правовращающими (+)-изомерами соответствующих соединений, учитывая выраженную стереоспецифичность их биологического действия. Однако стереоспецифичность связывания хотя и необходима, но не вполне достаточна для биохимической идентификации морфинорецепторов. Было установлено, что некоторые сорта стеклянных фильтров связывают алкалоиды опия и родственные им соединения стереоспецифически, взаимодействуя преимущественно с фармакологически значительно более активным (—)-изомером. Широко распространенный в природе липид цереброзида сульфат связывает алкалоиды опия стереоспецифически, что, однако, не может рассматриваться как доказательство значення цереброзидов для построения и функционирования морфинорецепторов. Для того чтобы убедиться, что исследуемые соединения действительно взаимодействуют со специфическими клеточными рецепторами, исследователи стремятся установить корреляцию в достаточно обширных рядах соединений между их биологической эффективностью и сродством к предполагаемым рецепторным центрам.

Даже при использовании низких концентраций алкалоидов опия и родственных им соединений их неспецифическое связывание с различными биохимическими компонентами биомембран может превосходить специфическое связывание с морфинорецепторами. Поэтому после взаимодействия тканевых препаратов с мечеными лигандами необходимо тщательное, но быстрое (учитывая обратимость взаимодействия антагонистов или, в особенности, агонистов морфина с морфинорецепторами) промывание осадка, содержащего биомембраны, буферными растворами на микропористых фильтрах или путем центрифугирования, в результате чего удастся удалить значительную часть неспецифически связавшегося лиганда.

Другими критериями, используемыми при биохимической идентификации морфинорецепторов (и рецепторов для многих физиологически активных веществ), являются: 1) «насыщаемость» (т. е. достижение максимально возможной при данных условиях величины по мере нарастания концентрации лиганда), указывающая на ограниченность числа центров связывания; 2) высокое сродство к центрам связывания применяемого лиганда в соответствии с его биологической активностью; 3) ограниченность связывания только теми тканями (клетками), которые обнаруживают определенную физиологическую реакцию в ответ на воздействие алкалоидов опия или родственных им соединений.

Для биологической идентификации морфинорецепторов были с успехом использованы меченные радиоактивными атомами препараты как агонистов, так и антагонистов морфина. В опытах с меченым тритием антагонистом морфина налоксоном максимальная скорость его связывания с морфинорецепторами мозга крысы была отмечена при 35° С. При 4° С специфическое связывание было подавлено на 90%. Прогревание гомогената мозга в течение 10 мин при 55° С полностью предотвращало специфическое связывание. Ско-



рость связывания меченного тритием агониста морфина эторфина с морфинорецепторами мозга крысы была максимальна при 37° С.

При 37° С специфическое связывание  $^3\text{H}$ -налоксона ( $5 \cdot 10^{-9}$  М) с морфинорецепторами мозга крысы достигало полумаксимальной величины за 2 мин, а равновесия за 15 мин. При аналогичных условиях опытов специфическое связывание  $^3\text{H}$ -эторфина ( $10^{-9}$  М) заканчивалось за 10 мин.

Комплексы агонистов или антагонистов морфина с морфинорецепторами мозга легко подвергаются диссоциации. В опытах с  $^3\text{H}$ -налоксоном и  $^3\text{H}$ -дигидроморфином, имевшими высокую удельную радиоактивность, было установлено существование в мозгу крыс морфинорецепторов с высоким ( $K_d$  0,4 мМ) и низким ( $K_d$  30 мМ) сродством к указанным лигандам. Диссоциация комплексов налоксона с центрами связывания морфинорецепторов, имевших высокое сродство к агонистам или антагонистам морфина, происходила гораздо медленнее ( $\tau=30$  мин), чем диссоциация при такой же температуре комплексов налоксона с морфинорецепторами, характеризующимися низким сродством ( $\tau=5$  мин).

Специфическое связывание с морфинорецепторами меченных радиоактивными атомами молекул агонистов или антагонистов морфина конкурентно тормозится избытком алкалоидов опия и родственных им соединений пропорционально их биологической активности. Не относящиеся к числу алкалоидов опия или их антагонистов физиологически активные вещества (норадреналин, серотонин, гистамин, холин, глицин, глутаминовая и  $\gamma$ -аминомасляная кислоты) на специфическое взаимодействие с морфинорецепторами меченных агонистов или антагонистов морфина влияния не оказывали даже в относительно высокой концентрации (0,1 мМ).

Следует отметить, что идентифицируемые биохимически центры специфического связывания меченых агонистов или антагонистов морфина соответствуют лишь центрам узнавания (но не трансдукции) на поверхности морфинорецепторов.

Разработаны методы «мечения» морфинорецепторов мозга *in vivo* при помощи  $^3\text{H}$ -антагонистов (налоксон, дипренорфин) с высокой удельной радиоактивностью. Так, после внутривенного введения крысам  $^3\text{H}$ -дипренорфина более 80% накапливающейся в мозгу радиоактивности связывается с морфинорецепторами, а после быстрого замораживания, предотвращающего диффузию меченого антагониста морфина из центров его связывания с морфинорецепторами, расположение практически всех получаемых радиоавтографических гранул соответствовало расположению морфинорецепторов.

#### § 4. Локализация морфинорецепторов

При помощи методов биохимической идентификации *in vitro* и *in vivo* морфинорецепторов было установлено, что они встречаются только в нервной ткани позвоночных. Беспозвоночные на алкалоиды опия не реагируют. Обнаружить морфинорецепторы в их тканях



не удалось. У позвоночных морфинорецепторы сосредоточены главным образом в тканях мозга. В эритроцитах человека, а также в участках мышц, свободных от нервных окончаний, и гомогенатах печени морфинорецепторы отсутствуют. У морской свинки мышцы тонкого кишечника, реагирующего на алкалоиды опия, содержат морфинорецепторы, локализованные в нервных окончаниях. Кишечник крысы на алкалоиды опия не реагирует и морфинорецепторов не содержит.

Полагают, что морфинорецепторы могут быть качественно различными в разных тканях. Так, морфинорецепторы мозга в 4000 раз более чувствительны к агонисту морфина леворфанолу, чем к его энантиомеру декстрорфану, тогда как морфинорецепторы кишечника лишь в 500 раз более чувствительны к леворфанолу, чем к декстрорфану.

В отдельных образованиях серого вещества головного мозга позвоночных концентрация морфинорецепторов различается в 30 и более раз. В тканях головного мозга обезьян наибольшая концентрация морфинорецепторов обнаружена в миндалевидном ядре (амигдала), причем передняя часть ядра содержит в два раза больше рецепторов, чем задняя. Значительные количества морфинорецепторов обнаружены также в таламусе, головке хвостатого ядра полосатого тела, гипоталамусе. Много морфинорецепторов имеется в *locus coeruleus*, где сосредоточены тела нервных клеток, химическим передатчиком нервных импульсов в которых служит норадреналин. Другим анатомическим образованием среднего мозга, в котором обнаружено много морфинорецепторов оказалась черная субстанция, где сосредоточены тела дофаминергических нервных клеток. Таким образом, две основные катехоламинергические (норадреналин- и дофаминергические) системы центральной нервной системы непосредственно связаны с морфинорецепторами. Однако морфинорецепторы не являются компонентами аксонов или нервных окончаний норадренергических или дофаминергических нейронов, что было установлено, в частности, избирательным разрушением 6-оксидофамином нигростриарных дофаминергических проводящих путей мозга. Не удалось обнаружить полного параллелизма в распределении между различными анатомическими образованиями мозга морфинорецепторов и фермента тирозингидроксилазы, свойственного норадреналин- и дофаминергическим нейронам. Так, медиальное ядро таламуса содержит значительно больше морфинорецепторов, чем латеральное, но содержание тирозингидроксилазы, наоборот, выше в латеральном ядре таламуса, чем в медиальном.

Ядра шва среднего мозга, в которых сосредоточены клеточные тела серотонинергических нейронов мозга, богаты серотином, но содержат лишь небольшое число морфинорецепторов.

Гипоталамус богат как морфинорецепторами, так и  $\gamma$ -аминомасляной кислотой, но бледный шар, в котором концентрация  $\gamma$ -аминомасляной кислоты достигает величин, относящихся к числу наиболее высоких для мозга, относительно беден морфинорецепторами.

В распределении морфинорецепторов, с одной стороны, и ацетил-



холина, а также фермента холинацетилтрансферазы — с другой, также обнаружены существенные различия. Так, серое вещество среднего мозга, окружающее Сильвиев водопровод, содержит много морфинорецепторов, но обладает лишь умеренной холинацетилтрансферазной активностью.

В коре мозга, где морфинорецепторов примерно в четыре раза меньше, чем в стволовой части, они обнаруживаются в значительном количестве в лобных, чем в затылочных зонах. Наименьшее число морфинорецепторов имеется в сером веществе мозжечка и спинного мозга.

Кинетический анализ процессов связывания меченных тритием молекул агонистов или антагонистов алкалоидов опия с мембранными структурами нейронов указывает на то, что региональные различия в стереоспецифическом связывании отражают вариации числа морфинорецепторов, а не их сродства к морфину или родственным ему соединениям.

Полагают, что региональное распределение морфинорецепторов в центральной нервной системе человека и обезьяны соответствует расположению палеоспинальных и спиноретикулодизенцефальных проводящих путей, опосредующих мотивационноаффективные компоненты болевых синдромов, в особенности характеризующихся хроническими, относительно плохо локализуемыми болями. В пользу этих предположений приводят результаты опытов, согласно которым электростимуляция богатых морфинорецепторами узлов серого вещества среднего мозга вызывала болевой синдром, избирательно устраняемый имплантацией в эти анатомические образования небольших количеств морфина.

При фракционировании гомогената мозга крыс морфинорецепторы были обнаружены преимущественно во фракции синапсом, т. е. отделенных от нервов нервных окончаний. Наименьшее число морфинорецепторов содержалось во фракции клеточных ядер. Растворимая фракция гомогената (гиалоплазма) морфинорецепторов не содержала. Подвергая фракцию синапсом гипотоническому лизису с последующим центрифугированием в градиенте плотности сахарозы, удалось установить, что морфинорецепторы связаны с синаптическими мембранами. На вопрос о том, с пресинаптическими или постсинаптическими мембранами связаны морфинорецепторы, эти данные не отвечают, но они согласуются с представлениями об обусловленности первичных фармакологических эффектов алкалоидов опия изменениями функций синапсов.

### § 5. Взаимодействие наркотических анальгетиков с морфинорецепторами

Свойства морфинорецепторов обнаруживают значительные изменения при воздействии на них катионов металлов. Так, катионы натрия повышают скорость связывания с морфинорецепторами антагонистов морфина. Имеются данные, что при этом возрастает чис-



ло центров связывания антагонистов морфина на поверхности морфинорецепторов. Свойство агонистов морфина взаимодействовать с морфинорецепторами, наоборот, угнетается катионами натрия, по-видимому, в результате увеличения скорости диссоциации комплексов агонистов с рецепторами.

Усиление связывания антагониста морфина налоксона с морфинорецепторами было отмечено уже при концентрации NaCl порядка 0,5 мМ; в присутствии 100 мМ NaCl эффект был максимальным. Торможение связывания агониста морфина дигидроморфина с морфинорецепторами наблюдалось в присутствии уже 5 мМ NaCl и было максимальным при повышении концентрации NaCl до 150 мМ. При физиологических концентрациях NaCl связывание с морфинорецепторами антагонистов морфина значительно возрастает, ■ связывание агонистов морфина снижается. Именно этим «натриевым эффектом» объясняют большую фармакологическую эффективность ■ клинике антагонистов по сравнению с агонистами морфина.

Установлено, что эффекты натрия направлены на центры связывания антагонистов или агонистов алкалоидов опия с высоким средством ( $K_d=0,3$  мМ), но на центры связывания с низким средством ( $K_d=3,0$  мМ) катионы натрия не влияют.

Эффекты натрия на морфинорецепторы высокоспецифичны. Литий, атомный радиус и некоторые биологические эффекты которого сходны с таковыми для натрия, оказался единственным одновалентным катионом, воспроизводившим ■ известной мере действие натрия на морфинорецепторы. Литий ■ меньшей мере увеличивал связывание налоксона, но в равной мере снижал связывание дигидроморфина с морфинорецепторами мозга по сравнению с натрием. Калий, рубидий, цезий, имеющие иные атомные радиусы и биологические свойства, уменьшали связывание как налоксона, так и дигидроморфина. При помощи этих катионов в отличие от натрия нельзя дифференцировать агонисты и антагонисты морфина по свойству взаимодействовать с морфинорецепторами *in vitro*.

Двухвалентные катионы марганца, магния, никеля, но не кальция в физиологических концентрациях воздействуют на морфинорецепторы мозга в направлении, противоположном действию натрия; они избирательно усиливают связывание агонистов алкалоидов опия с морфинорецепторами. По-видимому, двухвалентные катионы, ■ особенности марганец, снижают чувствительность морфинорецепторов к натрию, ■ результате чего связывание антагонистов морфина угнетается.

Обработка фрагментов биомембран низкими концентрациями протеолитических фрагментов трипсина или химотрипсина резко нарушает функции морфинорецепторов, что указывает на их белковую природу. Обработка протеиназами в большей мере нарушает связывание с морфинорецепторами агонистов алкалоидов опия, а не их антагонистов.

Фосфолипиды прямого участия ■ функционировании морфинорецепторов не принимают. В пользу этого предположения свидетельствуют данные об отсутствии действия фосфолипазы С на функции



морфинорецепторов, хотя вопрос о влиянии фосфолипазы А на стереоспецифическое связывание алкалоидов опия и их антагонистов еще окончательно не решен.

Отсутствие эффекта относительно высоких концентраций азида и фторида натрия на функции морфинорецепторов указывает, что алкалоиды опия не подвергаются активному переносу в клеточные органеллы, а действительно связывается с рецепторными центрами на поверхности биомембран.

Реагенты, взаимодействующие с тиоловыми группами (N-этил-маленимид, *n*-оксимеркурийбензоат, иодацетамид), блокируют морфинорецепторы. Иодацетамид тормозит связывание  $^3\text{H}$ -дигидроморфина с высоким сродством, не оказывая влияния на связывание с низким сродством. Вообще реагенты на тиоловые группы в значительной большей мере тормозят связывание с морфинорецепторами агонистов, чем антагонистов алкалоидов опия. Внесение в пробы, содержащие препараты биомембран, меркаптоэтанола, а также агонистов или антагонистов алкалоидов опия, защищает морфинорецепторы от инактивации под действием реагентов на тиоловые группы. Возможно, что тиоловые группы находятся в центре связывания алкалоидов опия на поверхности морфинорецептора или в непосредственной близости от этого центра. Но можно допустить, что алкалоиды опия защищают от воздействия тиоловых реагентов морфинорецепторы в результате конформационных изменений, индуцируемых аллостерическими взаимодействиями.

Для объяснения функционирования морфинорецепторов используют аллостерические модели действия ферментов. Морфинорецепторы существуют в двух быстро взаимопревращаемых состояниях, одно из которых характеризуется избирательным сродством к агонистам, а другое — к антагонистам морфина. Когда антагонист морфина взаимодействует с морфинорецептором, находящимся в состоянии, способствующем такому взаимодействию, то соответственно меньшее количество «агонистических» состояний становится доступным для взаимодействия с алкалоидами опия. Таким образом возникает фармакологический антагонизм между антагонистами и агонистами морфина. Для объяснения сопряженности процессов «узнавания» алкалоидов опия морфинорецепторами с изменениями проницаемости биомембран для катионов натрия постулируется, что катион натрия имеет избирательное сродство к одному из состояний рецептора, а именно к «антагонистическому» состоянию. Связывание натрия с морфинорецепторами способствует стабилизации их «антагонистического» состояния. При физиологических концентрациях катионов натрия морфинорецепторы преимущественно находятся в «антагонистическом» состоянии, чем и объясняют то, что антагонисты морфина проявляют фармакологические эффекты при значительно меньших дозах, чем его агонисты. Алкалоиды опия, взаимодействуя с которыми морфинорецепторы переводит их в «агонистическую» форму, способствуют освобождению натрия, связанного с находившимися в «антагонистической» форме морфинорецепторами. Можно допустить, что, связываясь с находящимися в «антагани-



стическом» состоянии морфинорецепторами, натрий не способен проникать через мембранные каналы и что, когда агонисты морфина взаимодействуют с морфинорецепторами, натрий освобождается, получая возможность проникать сквозь мембранные каналы.

## § 6. Эндогенные опиатоподобные пептиды

Накопление сведений о природе и свойствах морфинорецепторов в биологических объектах, никогда не взаимодействовавших с алкалоидами опия или родственными им соединениями, побуждало исследователей к активным поискам природных соединений, образующихся с морфинорецепторами в обычных условиях (т. е. в отсутствие морфина) и участвующих в химической передаче нервных импульсов при восприятии боли и эмоциональных сигналов. Предполагалось, что открытие эндогенных лигандов, взаимодействующих с морфинорецепторами как с постсинаптическими рецепторными зонами, приведет к развитию новых представлений о химической передаче болевых нервных импульсов.

В экстрактах мозга свиньи, а затем и других биологических объектах удалось обнаружить природные соединения, оказавшиеся пептидами, воспроизводившие некоторые биологические эффекты морфина. Эти соединения обычно называют «энкефалинами», или морфиноподобными факторами (МПФ). Термин «эндорфин» применяют для обозначения встречающегося в гипофизе пептида, который отличается по химической структуре от энкефалинов, но также воспроизводит некоторые биологические эффекты морфина.

Для обнаружения энкефалинов в биологических объектах были использованы методы, основанные либо на свойствах энкефалинов тормозить (подобно морфину или его агонистам) вызываемые электровозбуждением сокращения гладкомышечных препаратов (кишечник морской свиньи, семявыводящий проток мыши), либо на свойствах энкефалинов конкурентно тормозить связывание с морфинорецепторами мембранных структур нервных клеток меченных тритием агонистов или антагонистов алкалоидов опия. Результаты, получаемые обоими методами, хорошо согласуются между собой.

При выделении энкефалинов из экстрактов мозга были с успехом использованы такие их свойства, как растворимость в метаноле, устойчивость и растворимость при кипячении, когда значительная часть белков осаждается. Эффективным оказалось также использование уже на ранних этапах очистки метода гель-фильтрации через колонку с биогелем Р2, а на заключительных этапах очистки — метода высоковольтного электрофореза на бумаге.

По химическому строению энкефалины мозга свиньи или быка представляют собой смесь двух пентапептидов: тир-гли-гли-фен-мет («мет-энкефалин») и тир-гли-гли-фен-лей («лей-энкефалин»). В тканях мозга свиньи обнаружено в 4 раза больше мет-энкефалина, чем лей-энкефалина, тогда как в тканях мозга быка, наоборот, преобладает лей-энкефалин.



Региональное распределение энкефалинов в тканях мозга таких представителей позвоночных, как свинья, бык, крыса, обезьяна, очень сходно с описанным распределением морфинорецепторов. Однако отмечены и различия. Так, у обезьяны амигдала не содержит максимальной концентрации энкефалинов, хотя число морфинорецепторов в этом анатомическом образовании мозга наибольшее.

После дифференциального центрифугирования гомогенатов мозга крысы энкефалины, как и морфинорецепторы, обнаруживают в митохондриальной фракции, содержащей не только свободные митохондрии, но и синапсомы. Эта фракция гомогената характеризуется также наиболее выраженной (по сравнению с другими фракциями) способностью к захвату  $^3\text{H}$ -норадреналина, в чем участвуют синапсомы; а также относительно высокой моноаминоксидазной активностью (субстрат триптамин), которая сосредоточена как в свободных митохондриях, так и в митохондриях, заключенных в синапсомах. Энкефалины, как и морфинорецепторы, а также свойство осуществлять захват норадреналина, были обнаружены преимущественно в синапсомах, но не в свободных митохондриях, в которых преобладала в три раза больше по сравнению с синапсомами моноаминоксидазная активность. При гипотоническом лизисе синапсом энкефалины в противоположность морфинорецепторам оказываются не связанными с мембранами, а обнаруживаются в надосадочной жидкости.

Энкефалины взаимодействуют с морфинорецепторами подобно агонистам (но не антагонистам) морфина. Связывание энкефалинов с морфинорецепторами избирательно подавляется катионами натрия (5 мМ), но не калия и избирательно усиливается катионами марганца (1 мМ), но не кальция. Эти свойства особенно ясно были выражены в опытах, не с мет-энкефелином, а с лей-энкефелином, который, таким образом, представляется более «чистым» агонистом морфина.

Метаболизм энкефалинов еще не изучен. Предполагают, что энкефалины могут образоваться путем ограниченного протеолиза из пептидов-предшественников, в числе которых рассматривают пептидный гормон гипофиза  $\beta$ -липотропин, гексадекапептид  $\alpha$ -эндорфин,  $\beta$ -меланоцитстимулирующий, а также адренокортикотропный гормоны. Энкефалины гидролизуются карбоксипептидазой А, лейцинаминопептидазой и химотрипсином, но не трипсином. Однако действие на энкефалины тканевых пептидгидролаз, имеющих, вероятно, большое значение в физиологической инактивности энкефалинов, еще не изучено.

Очень большое внимание исследователей привлекают работы, связанные с химическим синтезом, биохимическими, фармакологическими, физиологическими, а также клиническими испытаниями таких аналогов энкефалинов, которые, сохраняя их свойства действовать на морфинорецепторы мозга подобно агонистам морфина, не подвергались бы в организме быстрому гидролизу под влиянием пептидгидролаз, хорошо проникали бы в мозг, оказывая мощный анальгезирующий эффект без эйфории и привыкания. Опыты с вве-



деннем энкефалинов через микроканюли в стволую часть мозга показали, что энкефалины вызывают устраняемую налоксоном анальгезию. Возможно, что действие энкефалинов опосредовано влиянием на активность стимулируемой простагландинами аденилатциклазы головного мозга млекопитающих.

## ЛИТЕРАТУРА

- Альберт Э. Избирательная токсичность. — М.: Мир, 1971.
- Общие и прикладные вопросы хемотропности/Под ред. В. И. Гусельникова. — М.: Наука, 1977, с. 1—165.
- Лихтенштейн Г. И. Метод спинных меток в молекулярной биологии. — М.: Наука, 1974.
- Сейфулла Р. Д. Фармакол. и токсикол., 1976, № 4, с. 492—500.
- Сейфулла Р. Д., Сергеев П. В., Ульянкина Т. И. Усп. биол. химии, 1975, т. 16, с. 165—195.
- Сейфулла Р. Д., Чубарова А. В. Фармакол. и токсикол., 1976, № 3, с. 367—377.
- Сергеев П. В., Сейфулла Р. Д., Майский А. И. Молекулярные аспекты действия стероидных гормонов. — М.: Наука, 1971.
- Сергеев П. В., Сейфулла Р. Д., Майский А. И. Физико-химические механизмы и гормональная регуляция свертывания крови. — М.: Наука, 1974.
- Структура и функция биологических мембран/Под ред. А. С. Трошина. — М.: Наука, 1975, с. 1—345.
- Шумаков В. И., Сейфулла Р. Д. Фармакол. и токсикол., 1977, № 6, с. 656—667.
- Axenrod Th., Webb G. N.-Y.-L-Sydney-Toronto, John Wiley and Sons, 1974, p. 407.
- Hedvig P. Experimental quantum chemistry. Budapest, Akademiai Kiado, 1975, p. 533.
- Smythies J. Int. Rev Neurobiol., 1971, v. 14, p. 233—331.
- Александрова А. Е., Филатов Б. Н. Фармакол. и токсикол., 1966, т. 29, № 4, с. 413—416.
- Данилов А. Ф., Инденбом М. Л., Хромов-Борисов Н. В. Фармакол. и токсикол., 1972, т. 2, с. 160—163.
- Харкевич Д. А., Сколдинов А. П. ДАН СССР, 1971, т. 198, № 4, с. 985—988.
- Хромов-Борисов Н. В., Данилов А. Ф., Инденбом М. Л. и др. Фармакол. и токсикол., 1975, т. XXXVIII, № 6, с. 683—687.
- Хромов-Борисов Н. В., Инденбом М. Л., Данилов А. Ф. и др. Хим.-фарм. журн., 1973, т. 7, № 1, с. 5—7.
- Beers W. H., Reich E. Nature, 1970, v. 228, p. 917—922.
- Chang H. W. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1974, v. 71, p. 2113—2117.
- Fischer A. F. Die Naturwissenschaften, 1972, v. 9, p. 425—429.
- Klett R., Fulpius B. J. Biol. Chem., 1973, v. 248, p. 6841—6853.
- Miledi R., Molinoff P., Potter L. Nature, 1971, v. 229, p. 554—557.
- De Robertis E. Science, 1971, v. 171, p. 963—971.
- Абрамцев И. И. Фармакол. и токсикол., 1973, 36, 1, с. 32—36.
- Абрамцев И. И. Фармакол. и токсикол., 1977, 40, 2, с. 153—157.
- Абрамцев И. И., Комиссаров И. В. Бюлл. exper. биол. и мед., 1973, № 12, с. 39—43.
- Авакян О. М. Фармакологическая регуляция высвобождения и захвата норадреналина. — Ереван: Изд-во Арм. ССР, 1973.
- Андреев С. В., Кобкова И. Д. Роль катехоламинов в здоровом и больном организме. — М.: Медицина, 1970.
- Буданцев А. Ю. Моноаминергические системы мозга. — М.: Наука, 1976.
- Комиссаров И. В. Фармакол. и токсикол., 1966, 29, 2, с. 244—250.
- Комиссаров И. В., Абрамцев И. И. Усп. физиол. наук, 1977, 8, 2, с. 75—93.
- Комиссаров И. В., Кривобок Г. К. Бюлл. exper. биол. и мед., 1975, № 10, с. 6—9.
- Матлина Э. Ш. Усп. биол. химии, 1975, т. 16, с. 165—195.
- Углевский А. М. Фармакол. и токсикол., 1975, т. 16, с. 165—195.
- Greengard P., McAlfee D., Acabado...
- Horn A., Coyle J. Molec. Pharmacol., 1973, 2, 3, 356.
- Iversen L. Brit. Med. Bull., 1973, 2, 3, 356.
- Langer S. Biochem. Pharmacol., 1973, 2, 3, 356.
- Lefkowitz R., Levey G. Life Sci., 1973, 2, 3, 356.
- Livett B. Brit. Med. Bull., 1973, 2, 3, 356.
- Ионов И. Д. Фармакол. и токсикол., 1976, № 3, с. 367—377.
- Bhargava K., Dixit K., Palit G.
- Black J., Duncan W., Durant C.
- Brimblecombe R., Duncan W., D...
- Caldara R., Berti L., Barbieri C.
- Clark R., Sandler J., Gallin J. et
- Cook D., Kenakin T., Krueger C.
- Devoto P., Marchisio A., Carbon...
- Ferrari C., Caldara C., Boluerti
- Funder J., Mercer J. J. Clin. E
- Hirschowitz B. Ann. Rev. Pharm
- Impicciatore M., Bertracini G.,
- 1977, v. 156, p. 296—298.
- Jasani B., Kreil G., Mackler B.
- Kanof P., Greengard P. Nature,
- Kenakin T., Cook D. Mol. Pharm
- Kramer P., Hazlett J., Kildsig I
- Leti-Brown M., Leonard E. J. Im
- McCarthy D. Gastroenterology,
- Mitchell R. J. Chem Soc. Perkin
- Osband M., McCaffrey R. J. Biol
- Palacios J., Young W., Kuhor
- Reilly M., Schayer R. Agents an
- Reinhardt D., Schmidt U., Broc
- Rudolf C., Richard G., Kaplan
- Rotschild A. Biochem. Pharmac
- Schwartz J. Life Sci., 1979, v. 2
- Thithapandha A., Cohn V. B
- Макаренко Т. П., Кузьмин И. I
- Меньшиков В. В., Бассалык Л
- М. Медицина, 1972.
- Пидевич И. Н. Фармакология
- ина, 1977.
- Aghajanian G. Fed. Pros., 197
- Brawley P., Duffield J. Phar
- Couch J. Brain Res., 1970,
- Hiatt R., Goodman I., Ov
- Mandel L., Ahn Ho Sar
- Welsh J. Comp. and G
- Веремеенко К. Н. К
- Гомазков О. А. Ка
- Дзизинский А. А.
- Углевский А. А.
- Ердős E., Wilde
- Kaplan A. Micro



- Матлина Э. Ш. Усп. физиол. наук, 1972, 3, 4, с. 92—130.  
 Утевский А. М., Расин М. С. Усп. совр. биол., 1972, 73, 3, с. 323—342.  
 Bevan P., Bradshaw C., Szabadi E. Brit. J. Pharmacol., 1976, 58, 3, p. 418.  
 Greengard P., Mc Afee D., Kebabian J. Adv. Cyclic Nucleotide Res., 1972, 1, p. 337—356.  
 Horn A., Coyle J. Molecul. Pharmacol., 1971, 7, 1, p. 66—80.  
 Iversen L. Brit. Med. Bull., 1973, 29, 2, p. 130—135.  
 Langer S. Biochem. Pharmacol., 1974, 23, 13, p. 1793—1800.  
 Lefkowitz R., Levey G. Life Sci., 1972, 11, 16, p. 821—828.  
 Livett B. Brit. Med. Bull., 1973, 29, 2, p. 93—99.  
 Ионов И. Д. Фармакол. и токсикол., 1978, № 5, с. 624—632.  
 Bhargava K., Dixit K., Palit G. Br. J. Pharmacol., 1976, v. 57, p. 211—213.  
 Black J., Duncan W., Durant C. et al. Nature, 1973, v. 236, p. 385—399.  
 Brimblecombe R., Duncan W., Durant G. et al. Gastroenterologi, 1978, v. 74, p. 339—347.  
 Caldara R., Berti L., Barbieri C. J. Endocrinol. Invest, 1979, v. 3, p. 79.  
 Clark R., Sandler J., Gallin J. et al. J. Immunol., 1977, v. 118, p. 137—145.  
 Cook D., Kenakin T., Krueger C. Federation Proc., 1977, v. 36, p. 2584—2589.  
 Devoto P., Marchisio A., Carboni E. et al. Eur. J. Pharmacol., 1980, v. 63, p. 91—93.  
 Ferrari C., Caldara C., Boluerti M. et al. Clin. Endocrinol., 1979, v. 11, p. 619.  
 Funder J., Mercer J. J. Clin. Endocrinol. Metab., 1979, v. 48, p. 189—191.  
 Hirschowitz B. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 1979, v. 19, p. 203—244.  
 Impicciatore M., Bertracini G., Mossini F. et al. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1977, v. 156, p. 296—298.  
 Jasani B., Kreil G., Mackler B. et al. Biochem. J., 1979, v. 181, p. 623—632.  
 Kanof P., Greengard P. Nature, 1978, v. 272, p. 329—333.  
 Kenakin T., Cook D. Mol. Pharmacol., 1980, v. 17, p. 309—313.  
 Kramer P., Hazlett J., Kildsig D. J. Pharmac. Sci., 1977, v. 66, p. 542—545.  
 Lett-Brown M., Leonard E. J. Immunol., 1977, v. 118, p. 815—818.  
 McCarthy D. Gastroenterology, 1978, v. 74, p. 453—458.  
 Mitchell R. J. Chem Soc. Perkin Trans., 1980, part 2, p. 915—918.  
 Osband M., McCaffrey R. J. Biol. Chem., 1979, v. 254, p. 9970, 9972.  
 Palacios J., Young W., Kuhor M. Eur. Pharmacol., 1979, v. 58, p. 295—304.  
 Reilly M., Schayer R. Agents and Actions, 1978, v. 8, p. 203—205.  
 Reinhardt D., Schmidt U., Brodde O., Schümann H. Agents actions, 1977, v. 7, p. 1—12.  
 Rudolf C., Richard G., Kaplan S. et al. Neuroendocrinology, 1979, v. 29, p. 169.  
 Rotschild A. Biochem. Pharmacol., 1980, v. 29, p. 419—427.  
 Schwartz J. Life Sci., 1979, v. 25, p. 895—912.  
 Thithapandha A., Cohn V. Biochem. Pharmacol., 1978, v. 27, p. 263—271.  
 Макаренко Т. П., Кузьмин И. В. Хирургия, 1970, № 3, с. 138—143.  
 Меньшиков В. В., Бассалык Л. С., Шапиро Г. А. Карциноидный синдром. — М.: Медицина, 1972.  
 Пидевич И. Н. Фармакология серотонинореактивных структур. — М.: Медицина, 1977.  
 Aghajanian G. Fed. Pros., 1972, v. 31, p. 91—96.  
 Brawley P., Duffield J. Pharm. Rev., 1972, v. 24, p. 31—36.  
 Couch J. Brain Res., 1970, v. 19, p. 137—150.  
 Hiat R., Goodman I., Overweg N. J. Am. Surgery, 1970, v. 119, p. 527—529.  
 Mandel L., Ahn Ho Sam, Vanderi H., Walker R. Biochem. Pharmacol., 1972, v. 21, p. 1197—1200.  
 Welsh J. Comp. and Gen. Pharm., 1971, v. 2, p. 423—432.  
 Веремеенко К. Н. Кининовая система. — Киев: Здоровья, 1977.  
 Гомазков О. А. Кардиология, 1973, № 7, с. 130—150.  
 Дзизинский А. А., Гомазков О. А. Кинины в физиологии и патологии сердечно-сосудистой системы. — Новосибирск: Наука, 1976.  
 Удельнов М. Г., Кулагина В. П. Усп. совр. биол., 1973, т. 75, с. 125—148.  
 Erdös E., Wilde A. Pharmacol., 1970, v. 25, Berlin-Spring.  
 Kaplan A. Microv. Res., 1974, v. 8, p. 97—111.



Vogel R., Werle E., Zickgraf-Rüde L. Z. klin. Chem. u. klin. Biochem., 1970, Bd. 8, p. 177—185; 1971, Bd. 9, p. 164—174.

Арчаков А. И. Микросомальное окисление. — М.: Наука, 1975.

Персианинов Л. С. В Сб.: Простагландины и их применение в акушерст-  
ве. — М., 1977, с. 9—26.

Персианинов Л. С., Железнов Б. И., Богоявленская Н. В. Физиология и па-  
тология сократительной деятельности матки. — М.: Медицина, 1975.

Чернуха Е. А. Акуш. и гинек., 1975, № 7, с. 7—9.

Classen M., Koch H., Deyhle P. et. al. Klin. Wschr., 1970, 48, 876—878.

Cuthbert M. Proc. Roy. Soc. Med., 1971, 64, p. 15—16.

Dusting G., Moncada S., Vane J. Prostaglandins, 1977, 13, N 1, p. 3—15.

Hinman J. Postgrad. Med. J., 1970, 46, p. 562—575.

Hogland J., Kier L. J. Med. Chem., 1972, 15, p. 84.

Johnson R., Morton D., Kinner J. et al. Prostaglandines, 1976, 12, № 6,  
p. 915—928.

Karim S., Filshie G. Lancet, 1970, p. 157—159.

Ramwell P., Shaw J. Recent Progr. Hormone Res., 1970, 26, p. 139—173.

Roth-Brandel U., Bygdeman M., Wqvist N. et al. Lancet, 1970, i, p. 190—191.

Strecker G. Fette, Seifen, Anstrichmittel, 1976, 78, N 12, p. 464—468.

Smythies J. Receptors. Int. Rev. Neurobiol., 1971, 14, p. 233—331.

Wilson D., Phillips C., Levine R. Gastroenterology, 1970, 58, p. 1007a.

Огурцов С. И., Майский А. И. Проблемы молекулярной и клеточной пато-  
логии и фармакологии. — М.: 2 МОЛГМИ, 1973, с. 45—46.

Розен В. Б., Смирнова О. В., Волчек А. Г. Проблемы эндокринол., 1971,  
т. 17, № 5, с. 109—120.

Сергеев П. В., Майский А. И., Огурцов С. И. Усп. совр. биол., 1974, т. 78,  
вып. 1 (4), с. 107—121.

Хефتمان Э. Биохимия стероидов. — М.: Мир, 1972.

Краткий курс молекулярной фармакологии/Под ред. П. В. Сергеева. — М.:  
2 МОЛГМИ, 1975, с. 242—260.

Baulieu E., Wyga E., Milgrom E. et. al. Acta Endocrinol., 1974, v. 71, suppl.  
N 168, p. 396—419.

Beato M., Feigelson P. J. Biol. Chem., 1972, v. 247, N 37, p. 7890—7897.

Birnbaumer L. Adv. Cyclic Nucleotide Res., 1974, v. 4, p. 239—281.

Bresciani F., Puca G., Nola E., Sica V. Cold spring Harbor Conf. Cell. Pro-  
liferat., C.E.S.E., 1974, p. 67—83.

Buller R., O'Malley B. Biochem. Pharmacol., 1976, v. 25, N 1, p. 1—12.

Fang S., Liao S. J. Biol. Chem., 1971, v. 246, N 1, p. 16—24.

French F., Ritzen E. Endocrinol., 1973, v. 93, N 1, p. 88—95.

King R., Gordon J., Steggle A. Hormone Steroids Proc. 3-rd Int. Congr.  
Hamburg, Amsterdam, 1970, p. 394—399.

Mainwaring W. Biochem. J., 1971, v. 124, N 5, p. 42—43.

O'Malley B., Shrader W. J. Steroid Biochem., 1972, v. 3, N 3, p. 617—627.

Puca G., Nola E., Sica V., Bresciani E. Biochem., 1972, v. 11, N 22,  
p. 4157—4165.

Toft D. Receptors for Reproduct Hormones. — N.-Y.-L.: Academic Press, 1973.  
p. 85—96.

Бергельсон Л. Д. Биологические мембраны. — М.: Наука, 1975.

Боннер Дж. Гормоны миксомицетов и млекопитающих. — М.: Мир, 1970,  
с. 166—180.

Лакин В. В., Белых А. Г. Фармакол. и токсикол., 1976, № 2, с. 212—216.

Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма. — М.: Мир, 1977.

Панов М. А., Самойлов В. И. Эндокринология, 1975, т. 21, № 6, с. 100—112.

Преображенская Н. П., Юркевич А. М. Вopr. мед. химии, 1973, т. 19, № 5,  
с. 451—462.

Райхман Л. М., Мошковский Ю. Ш. Молекулярная биология, 1974, т. 8,  
№ 5, с. 768—775.

Сейфулла Р. Д., Лакин В. В. Фармакол. и токсикол., 1975, т. 38, № 2,  
с. 237—246.

Фрей-Висслинг А. Сравнительная органеллография цитоплазмы. — М.:  
Мир, 1976.

Wilson A. C. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 107—119.  
Bennett V. L. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 120—129.  
Birnbaumer L. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 130—139.  
Cuatrecasas P. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 140—149.  
Henington L. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 150—159.  
Luly P., Barnabel O., Tria E. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 160—169.  
Orange J., Tullock B., Clark P. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 170—179.  
Rubalcava B., Rodbell M. J. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 180—189.  
Rubin R., Carchman R., Jaanus S. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 190—199.  
Sutherland E., Rall T. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 200—209.  
Sutherland E., Rall T. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 210—219.  
Cox B., Opheim K., Teschemacher A. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 220—229.  
Creese I., Pasternak G., Pert C. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 230—239.  
Cuatrecasas P., Hollenberg M. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 240—249.  
Goldstein A. Science 193, 1976, p. 10.  
Hughes J., Smith T., Kosterlitz H. et al. Nature, 1975, 257, p. 18.  
Loh H., Cho T., Wu T.-C., Way E. et al. Nature, 1975, 257, p. 19.  
Pasternak G., Snyder S. Nature, 1975, 257, p. 20.  
Pasternak G., Simantov R., Snyder S. et al. Life Sci., 1976, 19, p. 21.  
Pert C., Kuhar M., Snyder S. Life Sci., 1976, 19, p. 22.  
Pert C., Snyder S. Life Sci., 1976, 19, p. 23.  
Simantov R., Snowman A., Snyder S. et al. Life Sci., 1976, 19, p. 24.  
Simantov R., Snyder S. Life Sci., 1976, 19, p. 25.  
Simon E., Hiller J., Edelman I. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 260—269.  
Snyder S. Nature, 1975, 257, p. 18.  
Snyder S., Bennett J. Annual Rev. Biochem., 1976, 45, p. 27.  
Terenius L., Wahlström A. Acta Pharmacol. Toxicol., 1976, 38, p. 28.  
Teschemacher H., Opheim K., Cox B. et al. J. Biol. Chem., 1970, 245, 290—299.



- Allison A. *Chem. Phys. Lipids*, 1972, v. 8, N 4, p. 374—385.
- Bennett V., Mong L., Cuatrecasas P. *Membrane Biol.*, 1975, v. 24, N 2, p. 107—129.
- Birnbaumer L. *Biochim. et biophys. acta*, 1973, v. 300, N 2, p. 129—158.
- Cuatrecasas P. *J. biol. Chem.*, 1971, v. 246, N 21, p. 6532—6542.
- Cuatrecasas P. *J. Biol. Chem.*, 1972, v. 247, N 7, p. 1980—1991.
- Hemington I., Dunn A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1971, v. 44, N 1, p. 71—77.
- Luly P., Barnabel O., Tria E. *Biochem. et biophys. acta.*, 1972, v. 282, N 1, p. 447—452.
- Orange J., Tullock B., Clark P. *Immunol.*, 1972, v. 82, N 1, p. 115—119.
- Rubalcava B., Rodbell M. *J. Biol. Chem.*, 1973, v. 246, N 11, p. 3831—3837.
- Rubin R., Carchman R., Jaanus S. *Nature New Biol.*, 1972, v. 240, N 100, p. 150—152.
- Sutherland E., Rall T. *Pharmacol. Rev.*, 1960, v. 12, N 3, p. 265—299.
- Sutherland E., Rall T., Menon T. *J. Biol. Chem.*, 1962, v. 247, N 4, p. 1200—1227.
- Cox B., Opheim K., Teschemacher H., Goldstein A. *Life Sci.*, 1975, 16, p. 1777—1782.
- Creese I., Pasternak G., Pert C., Snyder S. *Life Sci.*, 1975, 16, p. 1837—1842.
- Cuatrecasas P., Hollenberg M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 62, 1975, p. 31—42.
- Goldstein A. *Science* 193, 1976, p. 1081—1085.
- Hughes J., Smith T., Kosterlitz H. et al. *Nature*, 258, 1975, p. 577—579.
- Loh H., Cho T., Wu T.-C., Way E. *Life Sci.*, 1974, 14, p. 2231—2245.
- Pasternak G., Snyder S. *Nature*, 1975, 253, p. 563—565.
- Pasternak G., Simantov R., Snyder S. *Molec. Pharmacol.*, 1976, 12, p. 504—513.
- Pert C., Kuhar M., Snyder S. *Life Sci.*, 1975, 16, p. 1849—1854.
- Pert C., Snyder S. *Life Sci.*, 1976, 16, p. 1623—1624.
- Simantov R., Snowman A., Snyder S. *Brain Research*, 1976, 107, p. 650—657.
- Simantov R., Snyder S. *Life Sci.*, 1976, 18, p. 781—788.
- Simon E., Hiller J., Edelman I. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1973, 70, p. 1947—1949.
- Snyder S. *Nature*, 1975, 257, p. 185—189.
- Snyder S., Bennett J. *Annual Rev. Physiol.*, 1976, 38, p. 153—175.
- Terenius L., Wahlström A. *Acta Physiol. Scand.*, 1975, 94, p. 74—81.
- Teschemacher H., Opheim K., Cox B. et al. *Life Sci.*, 1975, 16, p. 1771—1776.



## ЧАСТЬ IV

### НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ

Психотропные вещества, оказывающие избирательное влияние на психическую деятельность и эмоциональную сферу человека, стали применяться в начале 50-х годов нашего столетия и довольно быстро завоевали признание во многих областях практической медицины. Они широко используются не только в психоневрологической клинике, но и в анестезиологии, и реанимации, при подготовке больных к операциям, клинике внутренних болезней, кардиологии, акушерстве, педиатрии, дерматологии, отоларингологии, авиационной и космической медицине. В фундаментальных исследованиях, особенно в области нейробиологии, психиатрии, физиологии, психотропные средства играют роль своеобразных «инструментов» познания, так как позволяют моделировать в опытах на животных многие патологические состояния. Это дало основание назвать психофармакологические вещества подлинными «катализаторами научных исследований» (Van Praag, 1973). Так, например, широко используемые для лечения душевнобольных нейролептики вызывают у людей и животных состояние двигательного оцепенения, заторможенности, получившее название каталепсии. В основе этого расстройства лежит повышение активности экстрапирамидных подкорковых структур, осуществляющих тормозной контроль двигательной сферы. Еще более ценными представляются возможности моделирования с помощью лекарственных средств психопатологических расстройств. Оказалось, например, что у больных гипертонической болезнью, длительно лечившихся резерпином, для снижения артериального давления, нередко возникали психические депрессии. Психиатры, применявшие для лечения возбужденных больных аминазин, наблюдали наряду с благоприятными успокаивающим эффектом нейролептика появление у части пациентов типичных депрессивных состояний. Противоположные изменения психического состояния — возбуждение с явными признаками настоящего психоза — галлюцинациями и бредом были отмечены у людей, злоупотреблявших приемом больших доз стимулирующего средства из класса фенилалкиламинов — фенамина. Такие больные зачастую попадали в клинику с диагнозом шизофрении. Основываясь на этих наблюдениях, американские исследователи предложили рассматривать фенаминовый психоз как «эвристическую» модель шизофрении.

1) изучение механизмов действия психотропных веществ  
2) изучение влияния психотропных веществ на биохимические процессы в нервной системе  
3) нейрохимический анализ действия психотропных веществ  
4) морфологический анализ действия психотропных веществ  
5) нейрофизиологический анализ действия психотропных веществ  
6) изучение влияния психотропных веществ на биохимические процессы в нервной системе  
7) собственно фармакологический анализ действия психотропных веществ  
8) изучение действия психотропных веществ на биохимические процессы в нервной системе

Существует несколько классов психотропных. Остается классификация В. Нейролептики

Фенотиазины:  
с алифатической боковой цепью (проперидин)  
с алифатической боковой цепью (галоперидол)  
с алифатической боковой цепью (тиорексантены: хлорпромазин, трифлуоперазин)  
с алифатической боковой цепью (карболины: карбидин)  
с алифатической боковой цепью (бутирофеноны: галоперидол)  
с алифатической боковой цепью (алкалоиды раувольфии)  
с алифатической боковой цепью (синтетические аминазины)  
с алифатической боковой цепью (производные пропранолола)  
с алифатической боковой цепью (производные валлюма)  
с алифатической боковой цепью (производные оксазона)  
с алифатической боковой цепью (производные дифениламина)  
с алифатической боковой цепью (производные хинолина)  
с алифатической боковой цепью (психостимуляторы)  
с алифатической боковой цепью (производные пурин-аденина)  
с алифатической боковой цепью (фенилалкиламины)  
с алифатической боковой цепью (производные пиперидина)  
с алифатической боковой цепью (производные сиднофана)  
с алифатической боковой цепью (антидепрессанты)  
с алифатической боковой цепью (ингибиторы МАО)  
с алифатической боковой цепью (гидразиды: трансаминазы)  
с алифатической боковой цепью (трициклические соединения)  
с алифатической боковой цепью (производные иминодибензил-амина)



В изучении механизма действия нейтротропных средств существует несколько подходов, каждый из которых характеризуется своими методами исследования. Условно можно выделить следующие основные направления в изучении психотропных средств:

1) структурно-химический подход, основанный на исследовании строения вещества-носителя психотропной активности и его физико-химических свойств;

2) изучение молекулярных механизмов действия психотропных веществ — влияние на биологические мембраны, транспорт ионов, биоэнергетику, молекулярные основы взаимодействия вещества с биохимическим субстратом (рецептором) и т. д.;

3) нейрохимический анализ состояния и функции медиаторов нервного возбуждения при действии психоактивных веществ;

4) морфологический аспект исследований с применением методов электронной микроскопии, гистохимии, авторадиографии, флуоресцентной микроскопии, иммунохимии;

5) нейрофизиологический, в том числе электрофизиологический, подход к изучению природы фармакологического эффекта;

6) изучение влияния веществ на поведение животных, высшую нервную деятельность, эмоциональную сферу;

7) собственно фармакологический анализ (общие закономерности распределения, метаболизма и выведения вещества; взаимодействие с другими фармакологическими веществами; явление толерантности и зависимости; токсичность);

8) изучение действия веществ на здоровом и больном человеке.

Существует несколько классификаций веществ, относящихся к классу психотропных. Одной из наиболее принятых и удобных является классификация В. В. Закусова:

#### *Нейролептики*

##### *Фенотиазины:*

с алифатической боковой цепочкой: хлорпромазин (аминазин, ларгактил), левомепромазин (нозинан)

с алифатической боковой цепочкой и пиперидиновым циклом: мепазин (пакатал)

с алифатической боковой цепочкой и пиперазиновым циклом: метеразин (компазин), этаперазин (трилафон), трифтазин (стелазин), мажептил (тиоперазин), френолон

Тиоксантены: хлорпротиксен (труксал)

Карболины: карбидин

Бутирофеноны: галоперидол, галоанизон

Алкалоиды раувольфии: резерпин

Синтетические аналоги резерпина: тетрабеназин, бензхинамид

#### *Транквилизаторы (атарактики)*

Производные пропандиола: мепробамат

Производные бензодиазепина: хлордiazепоксид (либриум, элениум), диазепам (валлум, седуксен)

Производные оксазина: триоксазин

Производные дифенилуксусной кислоты: бенактизин (амизил)

Производные хиноклидина: оксалидин

#### *Психостимуляторы (психоаналептики, психотоники)*

Производные пурина: кофеин

Фенилалкиламины: фенамин, первитин

Производные пиперидина: пиридрол (пипрадрол), меридил (ри-талин)

Производные сиднонимина: сиднофен, сиднокарб

#### *Антидепрессанты (тимолептики)*

##### *Ингибиторы МАО:*

гидразинового: ипразид, ниламид

негидразинового: трансамин, индопан

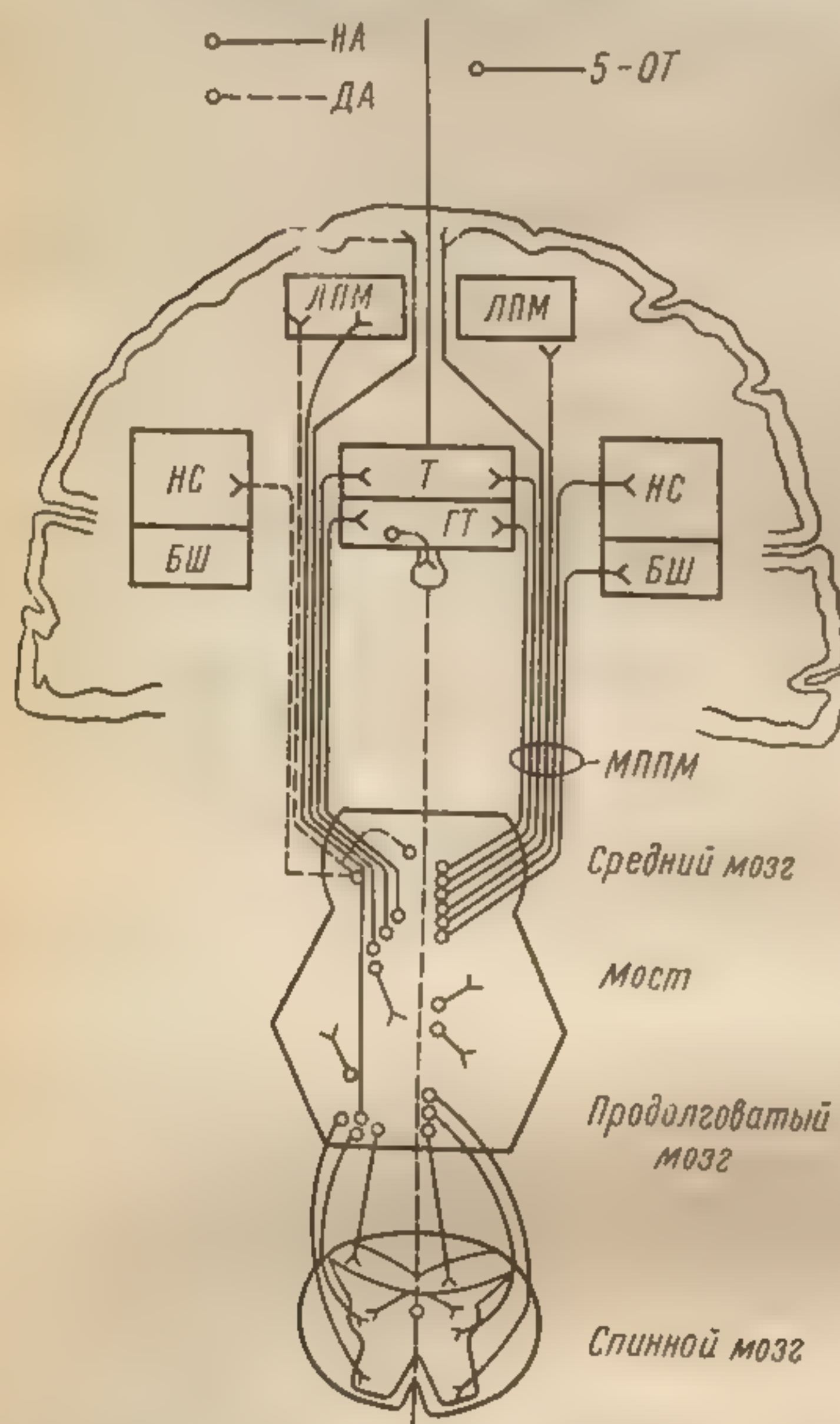
Трициклические соединения:

производные иминодибензила: имипрамин, трамепрамин



Л и т н ъ

Нейрохимическое изучение психотропных средств началось почти одновременно с их широ-



слева — катехоламинергические пути; справа — серотонинергические пути; НС — неостриатум, БШ — бледный шар; Т — таламус; ГТ — гипоталамус; ЛПМ — лимбические структуры переднего мозга; МПМ — медленный пучок переднего мозга; 5-ОТ — серотонин

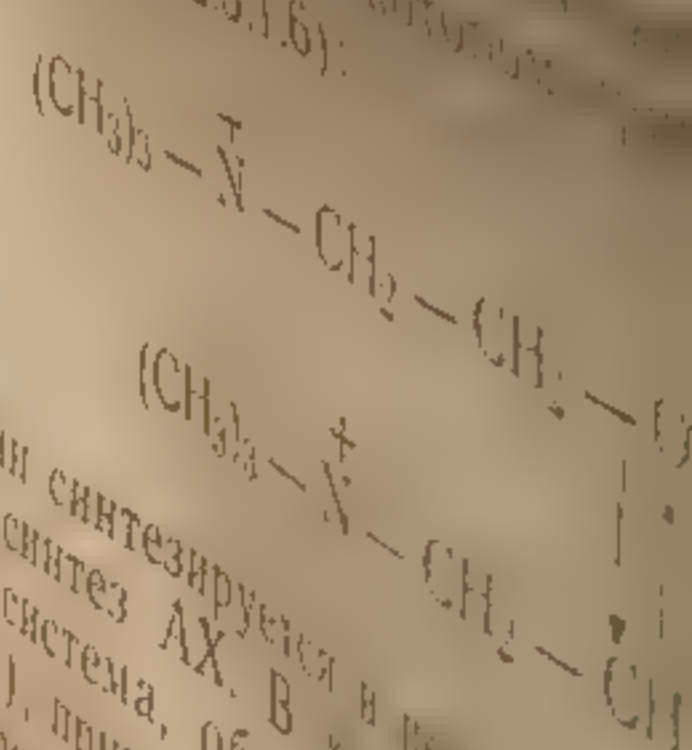
По современным представлениям моноамины, обнаруживаемые в тех или иных структурах ЦНС — норадреналин, дофамин, серото-

В основе современных представлений о механизме действия фармакологических веществ, изменяющих функции центральной и периферической нервной системы, так называемых нейротропных средств, лежит синаптическая теория (В. В. Закусов, 1973; С. В. Аничков, 1974). Согласно этой теории местом действия или точкой приложения большинства нейротропных веществ являются межнейронные контакты (синапсы), где передача нервного возбуждения осуществляется с помощью химических передатчиков, или медиаторов. Хотя для большинства синапсов центральной нервной системы природа химических передатчиков остается

ХОЛИНЕРГИЧЕСКИЕ И  
ПСИХОТРОПНЫЕ  
§ 1. Биохимия холине

## § 1. Биохимия холине

Большая часть нейронов центральной нервной системы его синтеза присутствуют в нейронах. Синтез АХ из его физиологический процесс, в котором участвует фермент (ААТ, ЕС 2.3.1.6):



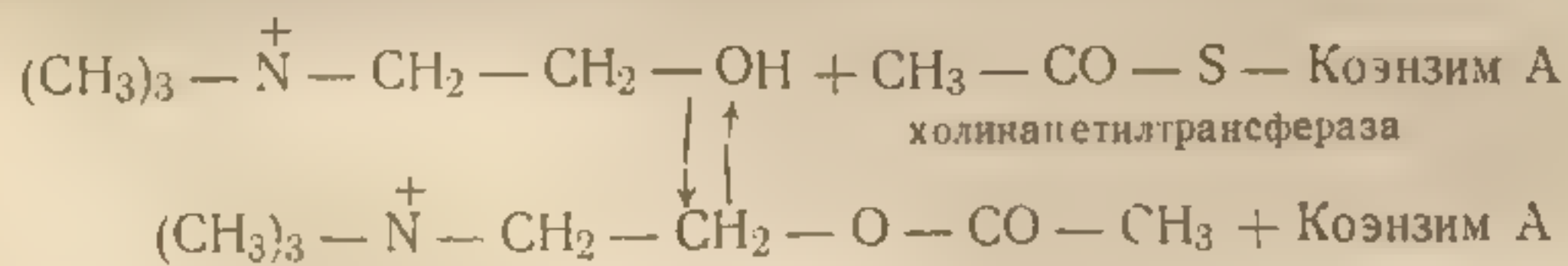
Холлин синтезируется в печени и в  
 оптимальный синтез АХ. В холинэстеразы  
 $\approx 10^{-6}$  М), причем до 35% холинэстеразы  
 еще гидролиз АХ. Помимо холинэстеразы  
 существует система захвата холина в  
 холинэстеразы. Помимо холинэстеразы  
 ХАА представляет собой фермент,  
 обладающий широким оптимумом pH  
 в кислой концентрации натрия (2,5)  
 ионов порядка 50 000—67 000



нин — функционируют как медиаторы или модуляторы в области терминалей тех нейронов, где эти амины содержатся. В адренергических нейронах помимо норадреналина имеется его предшественник дофамин, преимущественная локализация которого в структурах мозга иная, чем у норадреналина. Терминали дофаминергических нейронов находятся в области хвостатого ядра, полосатого тела и других структур переднего мозга, относящихся к экстрапирамидной и мезолимбической системам. Дофамин, по всей вероятности, медиатор нервного возбуждения в этих системах. Общая схема моноаминергических путей мозга показана на рис. 21.

## ГЛАВА 1

## § 1. Биохимия холинергической системы ЦНС





у АХ, фермент обладает стереоспецифичностью. Величины  $K_m$  ХАТ составляют соответственно  $0,45-0,75 \cdot 10^{-3}$  М для холина и  $1-2,5 \cdot 10^{-5}$  М для ацетилКоА.

АХ, содержащийся в мозге млекопитающих, подвергается разрушению с помощью одного из двух ферментов — специфической ацетилхолинэстеразы (АХЭ, ЕС 3.1.1.7) и неспецифической бутирилхолинэстеразы (БХЭ, ЕС 3.1.1.8), известной также под названием псевдохлинэстеразы. Механизм гидролитического расщепления АХ истинной АХЭ сводится к следующему. Между четвертичным атомом азота молекулы АХ и анионным центром энзима имеется слабое взаимодействие за счет сил Ван-дер-Ваальса. Одновременно между основным участком АХЭ и карбонильной группой АХ возникает слабое ковалентное связывание. Происходит, таким образом, ацетилирование энзима с образованием уксусной кислоты и молекулы воды. Величина  $K_m$  для АХ варьирует в пределах  $1,4-50 \times 10^{-4}$  М и обнаруживает зависимость от концентрации солей в среде. Оптимальное значение рН для АХЭ равно 8,25, но существует, по-видимому, сложная взаимосвязь между рН, рК и оптимальной концентрацией солей. Для АХЭ описано явление субстратного торможения.

АХЭ, выделенная из хвостатого ядра мозга человека, имеет молекулярную массу 230 000 и четыре активных центра. Максимальная активность фермента связана с синапсом, она проявляется также в теле нейрона и его отростках — дендритах и аксонах. Активность АХЭ в мозге человека и обезьян выше, чем у других животных. В целом локализация фермента в отдельных структурах мозга близка к распределению АХ и ХАТ, хотя и не совпадает с ними. Она наиболее высока в полосатом теле (преимущественно в интернейронах). Содержание АХЭ само по себе не отражает плотности холинергических нейронов в той или иной области мозга. Так, в коре мозжечка активность АХЭ соответствует таковой таламуса или коры мозга, хотя уровень АХ и активность ХАТ в мозжечке сравнительно низки. В белом веществе мозга АХЭ очень мало.

Гистохимическими методами показано, что, кроме вышеупомянутых структур АХЭ, обнаруживается в преоптической области, *N. accumbens*, латеральном амигдалоидном ядре, ядрах шва, интерпедункулярном ядре.

Внутри нейрона АХЭ локализована преимущественно в гранулярном эндоплазматическом ретикулуме и на аксональной мембране вдоль отростка, достигая его терминали. Нехолинергические нейроны, чувствительные к АХ, содержат АХЭ в области дендритов и в небольших количествах на самих нейронах, но не вдоль аксонов и терминалей. Это относится, в частности, ко многим моноаминергическим нейронам, являющимся холинорецептивными. В дендритах таких нейронов содержится АХЭ, выделяемая гистохимическими методами.

Бутирилхолинэстераза содержится в мозге не параллельно уровню АХ и, по-видимому, локализуется вненейронально (глиальные клетки, Шванновские клетки, соединительная ткань).

## § 2. Влияние психотропных средств на холинергические механизмы ЦНС

Из обширного класса холинергических веществ к разряду собственно психотропных средств можно отнести лишь центральные М-холинолитики, такие, как амизил и метамизил. В терапевтических дозах эти вещества оказывают успокаивающее влияние на животных и человека, воздействуя преимущественно на психоэмоциональную сферу, уменьшая чувство напряжения, страха, тревоги. На этом основании амизил и его аналог были отнесены к группе транквилизаторов. Предполагается, что их действие связано с блокированием центральных М-холинергических синапсов в структурах мозга, принимающих участие в формировании эмоциональных реакций. Так, известно, например, что электрическое раздражение или микроинъекция ацетилхолина в область переднего гипоталамуса вызывает у кошек реакцию ярости, которая может быть блокирована амизи-



лом. Вместе с тем другие психоседативные средства — нейролептики аминазин, трифтазин, галоперидол, транквилизаторы мепробамат и хлордиазепоксид не оказывали столь избирательного влияния на эту реакцию, поскольку эти вещества лишены М-холиноблокирующих свойств.

Центральные М- и Н-холинолитики находят еще одну область применения в современной психоневрологии. Известно, что нейролептики, широко используемые в клинике для лечения психически больных, обладают побочным эффектом, который проявляется в виде разнообразных двигательных расстройств.

Во время лечения наряду с благоприятным влиянием на психопатологическую картину болезни нейролептики вызывают у пациентов ряд признаков лекарственного паркинсонизма — ригидность, тремор, дискинезии. Судя по клинической симптоматике, эти расстройства связаны с повышением функции экстрапирамидных подкорковых структур, в первую очередь хвостатого ядра. В этих структурах содержится большое число АХ-содержащих нейронов, функция которых состоит в тормозном контроле произвольных движений. В свою очередь, нейроны хвостатого ядра испытывают на себе тормозное влияние со стороны дофаминергических нигростриатных путей, которые, по современным представлениям, блокируются нейролептиками. Центральные холинолитики, блокируя холинергические «выходы» хвостатого ядра на другие функционально важные системы — бледный шар, кору мозга, позволяют устранить эффект избыточной тормозной функции хвостатого ядра.

То что АХ, как и дофамин, действительно играет роль медиаторов в этих подкорковых структурах мозга, было показано в опытах с перфузией системы внутримозговых желудочков у кошек, когда в перфузате, омывающем структуры стриатума, удавалось обнаружить увеличенное высвобождение АХ и дофамина в ответ на то или иное раздражение.

Имеется ряд фармакологических доказательств, что экстрапирамидная система функционирует в результате тесного взаимодействия дофаминергического и холинергического звеньев. Так, вещества, стимулирующие дофаминовые рецепторы — амфетамин, апоморфин и пирибедил, обнаружили способность повышать содержание стриатного АХ, не оказывая при этом влияния на ферменты его синтеза или разрушения. При этом было отмечено, что у животных с деструкцией центральных дофаминергических нейронов, обусловленной введением 6-гидроксидофамина (6-ОН-ДА), эффект амфетамина не проявлялся, в то же время апоморфин и пирибедил, по-прежнему, вызывали повышение уровня стриатного АХ.

Эти данные свидетельствуют о существовании физиологического торможения стриатных холинергических нейронов со стороны дофаминергических терминалей. Дофамин как тормозной медиатор экстрапирамидной системы вызывает гиперполяризацию холинергических нейронов стриатума, уменьшает высвобождение АХ, что ведет к его внутринейрональному накоплению. Подобный эффект вызывают также известные дофаминомиметики апоморфин и пири-



бедил. Амфетамин же действует как непрямой дофаминомиметик — его эффект отсутствует в случае недостатка дофамина. Логично также, что блокада дофаминовых рецепторов нейролептиком пимозидом, сопровождается снижением уровня стриатного АХ и усилением функции последнего. Ни апоморфин, ни пирибедил в этих условиях не вызывают характерного для них эффекта накопления АХ.

Наконец, имеются данные, что медиаторная регуляция стриатной области имеет еще более сложную природу, поскольку в ней принимает участие и ГАМК-ергическое звено. Согласно этой гипотезе, процесс высвобождения дофамина из пресинаптических терминалей нигростриатных нейронов испытывает на себе тормозной контроль со стороны ГАМК-ергических нервных окончаний. В пользу такой трактовки говорят опыты с пикротоксином, блокирующим ГАМК-ергические рецепторы и повышающим уровень стриатного АХ. В общем виде постулируется существование нейрохимического механизма, регулирующего функцию стриатума и состоящего из трех звеньев: ГАМК-ергический (тормозной) контроль — дофаминергический (тормозной) контроль — холинергический (тормозной) контроль моторной деятельности. Стриатные холинергические нейроны рассматриваются как конечное звено этого трехмедиаторного цикла.

Таким образом, если участие холинергических механизмов в реализации действия центральных холинолитиков доказано, то для других психотропных средств роль этих механизмов еще не ясна.

## ГЛАВА 2

### АДРЕНЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ

#### § 1. Дофаминергическая гипотеза механизма действия нейролептиков

Известно, что в нейронах адренергического типа помимо норадреналина содержится его метаболитический предшественник дофамин. В подкорковых узлах стриопаллидарной системы, а также в ядрах, относящихся к мезолимбической системе, дофамин содержится в значительных количествах, что позволило рассматривать его как медиатор или модулятор активности указанных мозговых структур.

Ряд фактов свидетельствует в пользу того, что дофаминергические структуры мозга принимают непосредственное участие в реализации нейролептического эффекта. Для наглядности экспериментальные и клинические данные, послужившие основанием для гипотезы о дофаминергическом механизме действия нейролептиков, суммированы в табл. 22.

Как видно из таблицы, накопилось достаточно данных в пользу вовлечения центральных дофаминергических систем в развитие сложной картины изменений психической деятельности, поведения, нейрохимического баланса мозга, которые в совокупности дают то,



что принято называть **нейролептическим эффектом**. Однако, несмотря на обширность фактического материала, собранного в этой области, тонкие молекулярные механизмы взаимодействия нейролептиков с рецепторными структурами остаются не выясненными. В ряде исследований показано, что выделенный из стриатной об-

Таблица 22

| Эффекты нейролептиков   | Физиологическое значение  |
|---|---|
| Увеличение концентрации ГВК и 3-метокситирамина в мозгу животных  | Ускорение кругооборота ДА в мозгу   |
| Ускоренное образование в мозгу меченого дофамина из его радиоактивного предшественника тирозина   | Ускорение синтеза дофамина в мозгу  |
| Блокирование реакции активации ЭЭГ «изолированного мозга» кошки, вызванное введением ДОФА   | Активация ЭЭГ обусловлена ДА, образующимся из ДОФА  |
| Усиление импульсного потока в аксонах дофаминергических нервов нигростриатного и мезолимбического путей   | Увеличение частоты разрядов ДА-содержащих нейронов в области покрышки среднего мозга            |
| Избирательное накопление некоторых нейролептиков в областях мозга, богатых ДА-содержащими нейронами   | Связывание нейролептиков с синаптическими мембранами; блокада дофаминергической передачи        |
| Блокирование феномена апоморфиновой и фенаминовой двигательной стереотипии у животных и других эффектов стимуляции дофаминовых рецепторов стриатной области | Апоморфин и фенамин в больших дозах активируют ДА-рецепторы мозга                               |
| Избирательное угнетение ДА-чувствительной аденилатциклазы мозга   | Блокада ДА-рецепторов в ДА-содержащих структурах мозга  |
| Угнетение процесса высвобождения ДА из терминалей дофаминергических нейронов мозга  | Блокада дофаминергической передачи  |
| Конформационное сходство молекулы аминазина и некоторых других нейролептиков с молекулой ДА   | Возможность конкурентного взаимодействия нейролептиков и медиатора на уровне рецептора          |
| Экстрапирамидные двигательные нарушения у больных, возникающие в процессе лечения нейролептиками (лекарственный паркинсонизм)                               | Усиление тормозной функции хвостатого ядра, корректируемое ДОФА или центральными холинолитиками |

Условные обозначения: ГВК — гомованилиновая кислота; ДА — дофамин; ДОФА — 3,4-диоксифенилаланин.

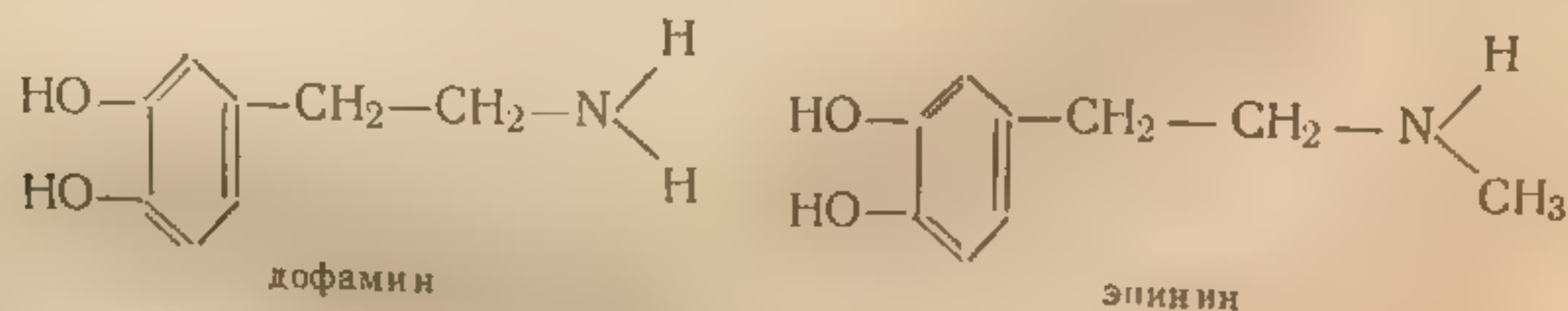
ласти мозга животных фермент аденилатциклаза проявляет высокую чувствительность к дофамину, подобно тому, как аденилатциклаза, чувствительная к норадреналину, рассматривается как фрагмент  $\beta$ -адренорецептора. Так, например, терминали норадренергических нейронов, лежащих в области *Locus coeruleus* мозгового ствола, выполняют тормозную функцию по отношению к клеткам Пуркинье мозжечка.



$\alpha$ -АМФ, подведенный ионофоретически к клеткам Пуркинье, способен имитировать тормозящий эффект НА на частоту разрядов этих клеток, причем ингибирующий эффект НА и  $\alpha$ -АМФ может быть усилен ингибиторами фосфодиэстеразы и устранен веществами  $\beta$ -адреноблокирующего типа. Как НА, так и  $\alpha$ -АМФ вызывают гиперполяризацию нейронов, подобную той, которая наблюдается при электрической стимуляции НА-нейронов, расположенных в среднем мозгу. Норадренергические тормозные пути обнаружены также и в других структурах мозга. Функция  $\alpha$ -АМФ, локализованного на постсинаптической мембране, может заключаться в регулировании активности  $\alpha$ -АМФ-зависимой протеинкиназы, вследствие чего изменяется уровень фосфорилирования специфических белков нейрональной мембраны, что приводит к изменению ее ионной проницаемости с последующими сдвигами медленного постсинаптического потенциала.

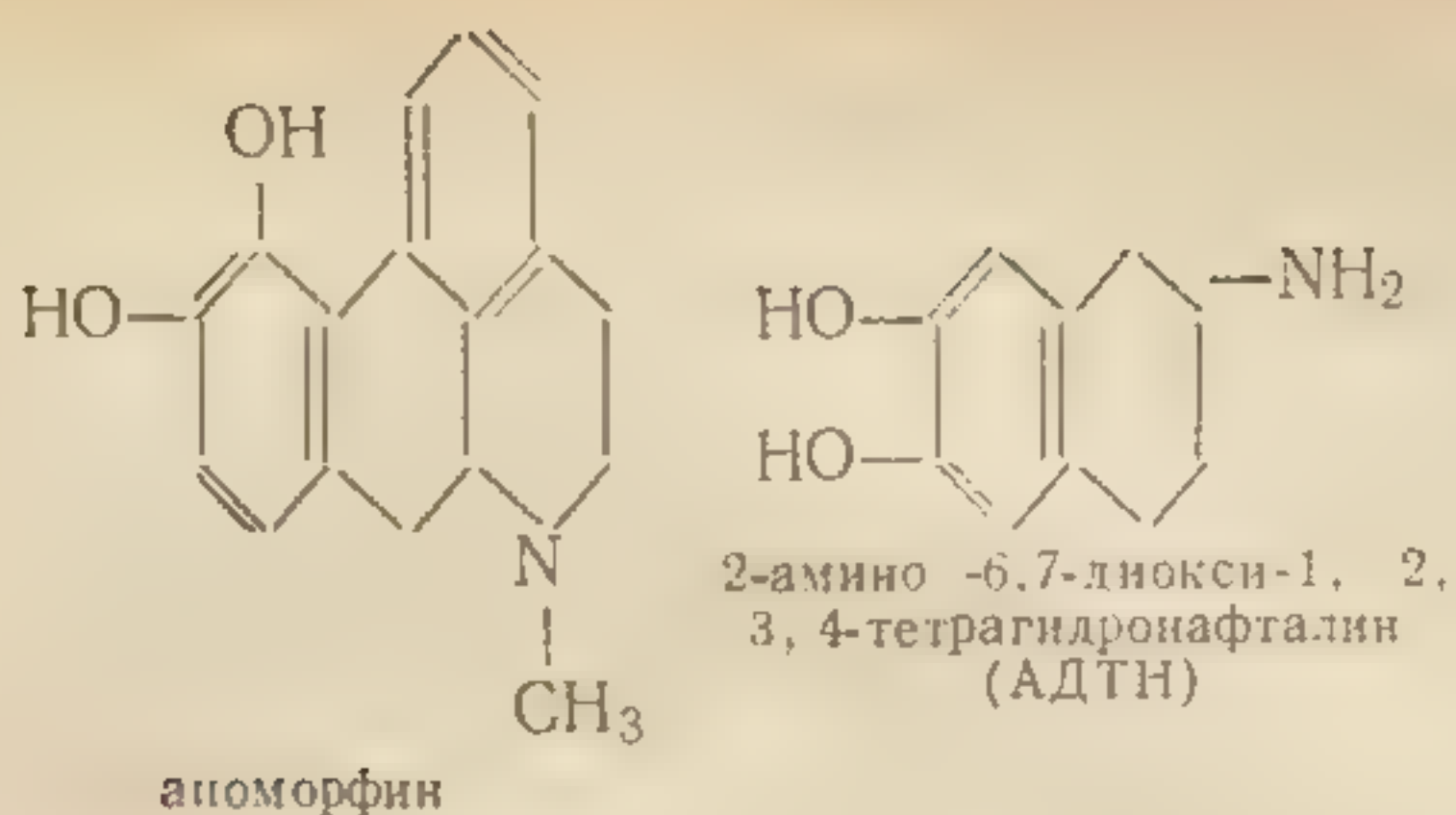
Выделенная из богатых дофаминовыми нейронами структур мозга ДА-чувствительная аденилатциклаза (ДААЦ) обнаруживает существенные отличия от фермента, чувствительного к НА. Так, в противоположность последнему ДААЦ не активируется специфическим агонистом  $\beta$ -адренорецепторов изопротеренолом, а ее реакция на ДА не устраняется  $\beta$ -блокирующим веществом пропранололом. Наконец, в отличие от НА-чувствительной АЦ мозга фермент, специфически чувствительный к ДА, выдерживает гомогенизацию в гипотонической среде, что указывает на его связь с фракцией синаптических мембран. Активность фермента сохраняется и в условиях дегенерации ДА-содержащих аксонов и терминалей, развивающейся в ответ на перерезку аксонов или их деструкцию с помощью 6-ОН-ДА. Все эти данные указывают на постсинаптическую локализацию фермента.

С открытием ДА-чувствительной АЦ в руках нейрохимиков оказалась удобная биохимическая модель, позволяющая изучить большое число возможных агонистов и антагонистов этого фермента. Хотя 1-НА способен активировать ДААЦ, выделенную из области стриатума, он оказался в 20 раз менее активным в сравнении с ДА. Из числа других простых аналогов дофамина равноэффективным с ним оказалось его N-метилпроизводное — эпинин:



Соединения, лишенные катехоловых групп или имеющие один или три углеродных атома в боковой алифатической цепочке, не обладают способностью стимулировать ДААЦ. Апоморфин, являющийся в структурном отношении жестким конформером дофамина, как и другое подобное соединение (АДТН), обнаруживает свойство активировать аденилатциклазу и по активности не уступает дофамину:





На основании этих данных возникло представление, согласно которому наиболее предпочтительной конформацией дофамина у активного центра рецептора следует считать полностью вытянутую транс-конформацию.

Таким образом, выделение ДА-чувствительной аденилатциклазы и изучение ее свойств позволило приблизиться к пониманию нейрохимических событий, имеющих место на уровне постсинаптической мембраны. Оказалось, что аминазин и большинство других исследованных в этом направлении нейролептиков способны более или менее избирательно блокировать вызываемую ДА активацию аденилатциклазы, измеряемую по приросту образующегося  $\alpha$ -АМФ.

Были исследованы нейролептики различного химического строения — фенотиазины, тиоксантены, бутирофеноны, представители новых классов — дифенилбутилпиперидина и дибензазепина, а также ряд других соединений, лишенных нейролептических свойств. Кинетический анализ показал, что нейролептики ведут себя как конкурентные по отношению к дофамину ингибиторы аденилатциклазы. Величины констант ингибирования ( $K_i$ ) для таких классических антипсихотических веществ, как аминазин и фторфеназин, оказались равными соответственно  $5-10 \cdot 10^{-8}$  и  $1-10 \cdot 10^{-9}$  М. Столь высокой избирательности действия нейролептики не проявляют ни по одному из когда-либо изучавшихся видов активности. Для большинства нейролептиков из группы производных фенотиазина и тиоксантина обнаружена хорошая корреляция с активностью тех же веществ по ряду экспериментальных критериев, принятых для оценки нейролептического эффекта на животных, а также по их клинической эффективности.

Предположительный молекулярный механизм блокирования аминазином дофамина рецептора обусловлен комплементарностью отдельных участков молекул нейролептика и дофамина, что было установлено методом рентгеноструктурного анализа.

Относительно мало активными были нейролептики бутирофеноновой группы, близкий к ним пимозид и производное дибензазепина клозапин. Все эти вещества оказались менее избирательными ингибиторами ДА-чувствительной АЦ, чем можно было ожидать, исходя из их фармакологических свойств и клинической эффективности. По влиянию на ДААЦ все они уступали аминазину, во много раз превосходя последний по силе антипсихотического действия.

По современным представлениям ускорение кругооборота дофамина и повышение функциональной активности ДА-содержащих

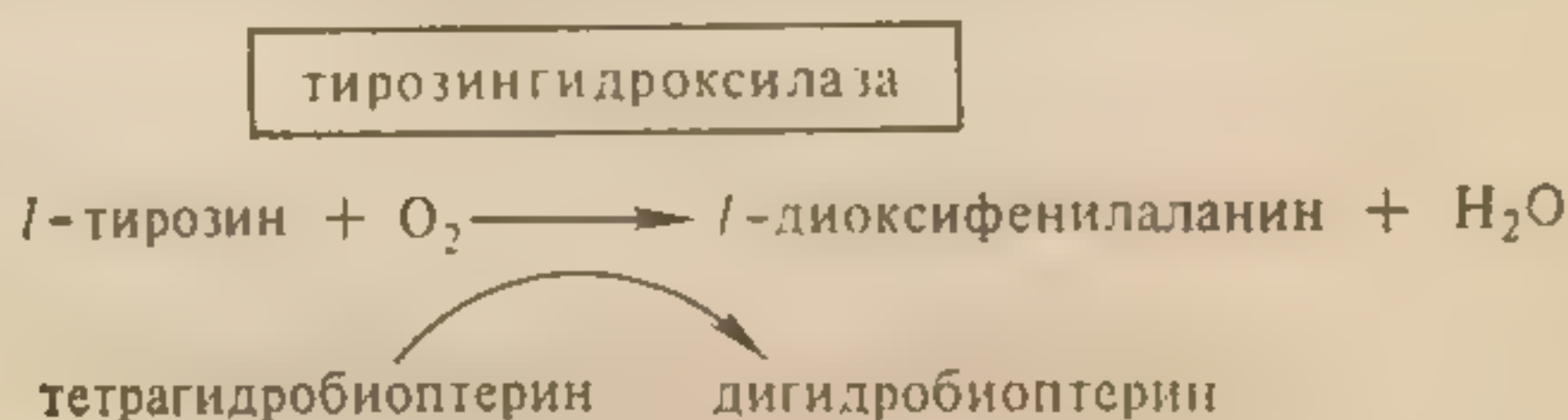


нейронов нигростриатного пути может иметь пресинаптическое происхождение. Известно, что нейролептики бутирофеноновой группы способны угнетать процесс высвобождения дофамина из нервных окончаний при их электрической стимуляции. Возможно, что для бутирофенонов именно этот аспект действия более избирателен.

Относительно малое влияние на кругооборот ДА таких нейролептиков, как клозапин и тиоридазин, объясняется, по-видимому, присутствием этих веществ М-холиноблокирующим действием.

## § 2. Влияние психотропных средств на тирозингидроксилазу мозга

Одним из центральных звеньев регуляции активности катехоламинергических путей мозга является тирозингидроксилаза (ТГ) — фермент, лимитирующий скорость превращения *l*-тирозина в *l*-ДОФА. Общий ход реакции заключается в следующем:



Гидроксилирование тирозина сопряжено с окислением кофермента птеридиновой природы — тетрагидробиоптерина, структура которого окончательно не установлена.

Как показали недавние исследования, ТГ существует в виде двух фракций — растворимой в цитоплазме нейрона и связанной с мембранами нервного окончания. Фермент испытывает на себе по крайней мере два регуляторных тормозных воздействия, функционирующих по типу «обратной связи»: 1) конкурентное торможение норадреналином и 2) аллостерическое торможение дофамином. По кинетическим характеристикам обе формы фермента (связанная с мембранами и растворимая) несколько отличаются: связанный фермент имеет большее сродство к синтетическому кофактору 6,7-диметилтетрагидроптерину (ДМПН<sub>4</sub>) и более чувствителен к ингибиторам, работающим по механизму «обратной связи». Это позволяет предполагать, что взаимный переход фермента из одного физического состояния в другое может функционировать как механизм быстрой «модуляции», т. е. регуляторной перестройки активности ТГ. Растворенная форма фермента соответствует, по-видимому, относительно неактивному конформационному состоянию.

Молекулярная масса растворимого фермента, определенная методом градиентного центрифугирования, оказалась равной  $200\,000 \pm 8\,000$ . После обработки трипсином была получена величина, в 4 раза меньшая, что позволило предположить существование нескольких субъединиц фермента. Растворимый фермент имеет в 8—10 раз меньшее сродство к кофактору, величина  $v_{\max}$  для раствори-



мой ТГ в 2 раза ниже, чем для мембрансвязанной. При этом добавка гепарина влечет за собой значительную активацию растворимого фермента, но не изменяет активность связанного. По всей вероятности, ТГ, находящаяся в нервных окончаниях, связана с мукополисахаридом синаптической мембраны, по строению похожим на гепарин. Связанная с мембранами ТГ распределена в мозгу соответственно числу катехоламинсодержащих нервных терминалей.

Из сказанного ясно, насколько сложны по своей природе возможные регуляторные воздействия на ТГ, в частности, фармакологические влияния.

Скорость тирозингидроксилазной реакции определяется несколькими факторами, важнейшими из которых являются, по-видимому, концентрация в среде кофактора и продуктов реакции. Скорость реакции может быть измерена либо изотопным методом по образованию меченого ДОФА, либо спектрофотометрически путем измерения прироста поглощения в изобестической точке при окислении ДМРН<sub>4</sub>, сопряженном с гидроксилированием субстрата. Оба метода дают близкие и хорошо воспроизводимые результаты.

Активность фермента регулируется конечными продуктами синтеза — дофамином и норадреналином. Повышение содержания катехоламинов в ткани, вызванное ингибиторами МАО, влечет за собой снижение активности ТГ. В противоположность этому электрическая стимуляция животного, различные стрессорные воздействия, повышенная физическая нагрузка, т. е. состояния, сопровождающиеся усиленным высвобождением медиаторных веществ из окончаний катехоламинергических нейронов в мозгу и на периферии, ведут к возрастанию активности ТГ. На основании этих фактов возникло представление о физиологическом, точнее синаптическом, механизме регуляции активности ТГ.

Как показали многие исследования, вещества, стимулирующие КА-рецепторы (природные медиаторы — НА и ДА, а также их синергисты — апоморфин, фенамин и др.), одновременно оказывают ингибирующее влияние на ТГ, причем этот эффект частично сохраняется и в условиях, исключающих возможность торможения активности фермента по механизму физиологической обратной связи (эффект сохраняется в пробирочных опытах, а также после перерезки дофаминергического нигростриатного пути или после блокады импульсного потока в этом пути). Для объяснения этого явления была предложена гипотеза о существовании двух уровней регуляции активности ТГ — пресинаптическом и постсинаптическом. Тем самым было постулировано наличие в пресинаптических нервных окончаниях специальных «ауторецепторов», чувствительных к медиатору. В данном случае дофамину.

Большой интерес представляет вопрос о возможном молекулярном механизме, с помощью которого психотропные вещества регулируют активность ТГ. Нейролептики, например, как было показано в ряде исследований, способны увеличивать сродство ТГ к ее кофактору, в то время как катехоламины вызывают, по-видимому, уменьшение сродства к кофактору и тем самым ингибируют фер-



мент. Психотропные вещества могут оказывать влияние на ТГ, изменяя концентрацию дофамина и норадреналина в нервном окончании, поскольку известно, что они в зависимости от дозы или концентрации угнетают или усиливают высвобождение медиатора из пресинаптических нервных окончаний, а кроме того, могут ингибировать процесс его обратного захвата, уменьшая тем самым внутриклеточную и повышая внеклеточную концентрацию медиатора. Вещества типа фенамина вызывают усиленное высвобождение медиатора из пресинаптических окончаний, а также непосредственно стимулируют адренергические рецепторы.

При этом предполагается, что стимуляция фенамином норадренергических рецепторов сопровождается усилением двигательной активности животных, в то время как хорошо известная из литературы двигательная стереотипия обусловлена вовлечением дофаминергических структур стриатума. В доказательство этих предположений были поставлены опыты с дисульфирамом — веществом, ингибирующим биологическое превращение дофамина в норадреналин в мозгу. Если фенамин вводился на фоне дисульфирама, когда количество НА в мозгу резко снижалось, а уровень ДА не изменялся или был слегка повышен, двигательное возбуждение не проявлялось, в то время как феномен стереотипии сохранялся. В опытах, где с помощью ингибитора ТГ  $\alpha$ -метил-*n*-тирозина достигалось практически полное ингибирование синтеза обоих катехоламинов, действие фенамина не проявлялось совсем или было резко ослаблено.

Судя по имеющимся данным, не существует прямой взаимосвязи между направленностью фармакологического действия того или иного психотропного вещества на поведение животных и его влиянием на активность ТГ. Фермент испытывает на себе сложные регуляторные воздействия как биохимического, так и физиологического порядка, которые могут изменяться при действии многих фармакологических веществ — нейрорептиков, психостимуляторов, агонистов и антагонистов ДА-рецепторов, ингибиторов синтеза типа  $\alpha$ -метил-*n*-тирозина и др.

### § 3. Влияние психотропных веществ на резервирование катехоламинов (КА)

Вскоре после того, как резерпин стал широко применяться для лечения артериальной гипертензии, ■ затем и шизофрении, появились первые нейрхимические доказательства возможного механизма его действия. Оказалось, что резерпин способен вызывать опустошение запасов моноаминов как в центральной нервной системе, так и в периферических тканях. Причина этого, как было выяснено, заключается в нарушении АТФ-зависимого механизма резервирования моноаминов в специальных гранулах — субклеточных образованиях, содержащихся в моноаминергических нервных окончаниях. КА, поступающие в гранулы, не удерживаются в них, а высвобождаются в цитоплазму и в синаптическую щель, где подвер-



гаются инактивации ферментами, и тем самым не достигают своих специфических рецепторов. Введение резерпина животным в первые 30 мин вызывает симптомы возбуждения, связанного с активным «выбросом» КА из их тканевых депо. Вслед за этим наступает фаза постепенно развивающейся депрессии — снижение двигательной активности, птоз, гипотермия, в больших дозах — брадикардия и диарея. Артериальное давление снижается. Модель резерпиновой депрессии получила широкое распространение в экспериментальной фармакологии для оценки эффективности антидепрессантов, которые оказались антагонистами резерпина.

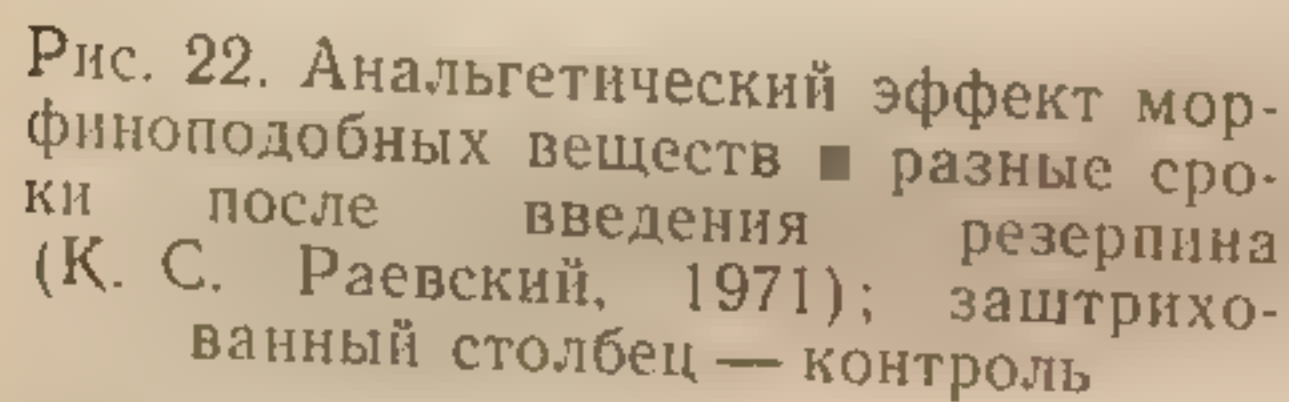
Вызываемое резерпином или его синтетическими аналогами (тетрабеназин, бензхинамид и др.) повреждение механизма гранулярного резервирования КА ведет к их высвобождению в цитоплазму с последующей инактивацией ферментом МАО. Ингибиторы этого фермента (ипрониазид, ниламид, паргилин и др.) предупреждают инактивацию КА. Под влиянием резерпина резко возрастает количество продуктов дезаминирования КА, в то же время снижается доля метоксилированных метаболитов, образующихся, как правило, в синаптической щели и являющихся поэтому своеобразными индикаторами физиологической функции КА.

Многие фармакологические вещества изменяют свое действие на фоне резерпиновой «депрессии» и сопутствующего снижения уровня биогенных КА. Так, в ряде исследований было обнаружено, что введение животным резерпина существенно уменьшает анальгетический эффект морфина. Анализ этого явления показал, что оно связано с потерей способности центральных адренергических нейронов резервировать медиатор. Введение предшественника катехоламинов ДОФА восстанавливало анальгетический эффект морфина до исходной величины, в то время как предшественник серотонина 5-ГТФ этим свойством не обладал. Выяснилось, что ослабление болеутоляющего эффекта на фоне сниженного уровня КА характерно не только для морфина, но является общим свойством всего класса наркотических анальгетиков (К. С. Раевский, 1971). Иллюстрацией этого положения могут служить данные, представленные на рис. 22. Интересно отметить, что даже при однократном введении эффект резерпина сохраняется длительное время — содержание КА в тканях остается сниженным в течение двух-трех недель. Болеутоляющий эффект анальгетиков на фоне резерпина остается уменьшенным на протяжении меньшего, но все же довольно длительного срока — для морфина и феналона — 5, фентанила — 7 дн.

Другое вещество, влияющее на везикулярные запасы норадреналина, — фенамин — психостимулирующее средство из группы фенилалкиламинов, структурно близкое к КА, но лишенное гидроксильных групп в ароматическом кольце. Фенамин при введении животным вызывает у них резкое двигательное возбуждение с одновременным снижением содержания КА в мозгу приблизительно на 30% от исходного уровня. Этот эффект объясняется усиленным высвобождением КА из везикулярных депо в синаптическую щель и возбуждением большего числа рецепторов. Кроме того, фенамин



намина нерезко и не играет, по-  
видимому, существенной роли  
в происхождении его стимули-  
рующего эффекта.



броса КА уже миновала, бо́льшая часть медиатора подвергается инактивации МАО и тем самым не поступает к рецептору. «Антидепрессивный» эффект не наблюдается. Данные о способности кокаина, фенамина, имипрамина и некоторых других веществ оказывать ингибирующее влияние на обратный захват НА пресинаптическими нервными окончаниями послужили основанием для более широкого изучения биохимической природы этого процесса и его физиологического значения.

#### § 4. Захват моноаминов как возможная точка приложения психотропных веществ

Мембраны пресинаптических терминалей адренергических нейронов на периферии и в ЦНС обладают высокоспецифической транспортной функцией, обеспечивающей перенос КА из внеклеточного пространства в нервные клетки. Помимо нейронального захвата-1 существует захват-2 КА гладкомышечными и железистыми



тканями, имеющий иные кинетические характеристики. Захват-1 обеспечивается транспортной системой с высоким сродством к НА ( $K_m = 0,2 \div 0,4$  мкМ), локализованной на аксональной мембране адренергических нейронов. Захват обладает высокой стереоспецифичностью по отношению к природному левовращающему изомеру НА и требует присутствия ионов натрия в среде. Помимо НА та же транспортная система способна захватывать другие КА и  $\beta$ -фенилэтиламины. Захват-2 (вненейрональный) имеет сравнительно низкое сродство к НА ( $K_m \approx 250$  мкМ) и более высокое по отношению к N-замещенным катехоламинам адреналину и изопропилнорадреналину. КА, подвергнувшись захвату-2, быстро инактивируются ферментами МАО и катехол-о-метилтрансферазой (КОМТ), присутствующими в гладкомышечной ткани. Если ингибиторами нейронального захвата, как уже отмечалось, служат известные психотропные средства, такие, как имипрамин, кокаин, фенамин, то по отношению к захвату-2 подобную активность обнаружили о-метилированные продукты превращения КА, адреноблокатор феноксibenзамин, некоторые стероиды (кортикостерон, тестостерон).

Предполагается, что активный транспорт медиаторных веществ осуществляется при участии гипотетического переносчика, способного обратимо связывать медиаторные вещества в присутствии ионов натрия. Важное значение имеет конформация захватываемого медиатора. Так, имеются основания считать, что для связывания НА с его переносчиком предпочтительной является *транс*-конформация. При изучении роли геометрии молекулы плодотворным оказывается такой подход, в котором наряду с известными ингибиторами захвата используются их аналоги, имеющие жесткую конформацию.

По отношению к фенамину таким жестким конформером может быть ингибитор МАО транилципромин. Оказалось, что его *транс*-форма в 600 раз более активна в ингибировании захвата НА, чем *цис*-форма.

Функциональное значение захвата определяется тем, что с его помощью реализуется один из наиболее мощных (и притом «экономных») механизмов инактивации медиатора без его разрушения.

В структурах мозга, богатых дофаминергическими нервными окончаниями, например, в области стриатума, функционирует система высокого сродства захвата дофамина с величиной  $K_m$  для этого амина равной 0,4 мкМ. Она имеет сходство с захватом НА, но обладает и целым рядом отличий. Система захвата ДА натрийзависима; помимо ДА она захватывает НА, но с меньшим сродством ( $K_m = 2$  мкМ) и без стереохимической избирательности. Из веществ, угнетающих захват ДА, можно указать на *d*-амфетамин, который, как и по отношению к захвату НА, активнее левовращающего изомера. Интересная особенность захвата ДА — его малая чувствительность к ингибирующему влиянию трициклических антидепрессантов и избирательное угнетение холинблокирующими веществами. В известной мере с этим, возможно, связана терапевтическая эффективность последних при паркинсонизме, поскольку ингибирование захвата должно вести к усилению постсинаптического эффекта медиа-



6-18-70

| Структурное образование | Вес  |
|-------------------------|------|
| Крысы                   |      |
| Спинной мозг:           | 0.73 |
| задние отделы           | 0.44 |
| передние отделы         | 0.52 |
| Столб мозга             | 1.03 |
| Продолговатый мозг      | 1.23 |
| Средний мозг            | 0.97 |
| Гипоталамус             | 2.64 |
| Таламус                 | 0.45 |

## § 1. Биохимия серотонинергической системы ЦНС

Образовавшиеся в ходе реакции 5-окси-триптомин метаболитами. Содержание серотонина в мозгу определяется радиометрическим методом. Однако при этом значительно повышается чувствительность анализа. Если замедлить инактивацию серотонина в мозгу, у животных во время введения даже небольшой дозы наблюдается резкий подъем уровня серотонина. Эта корреляция поведения и функциональной активности серотонина в мозгу, предполагали существование какой-либо части медиатора, но изменения скорости его синтеза и функциональной активности серотонина в мозгу не изменяют скорость синтеза серотонина. В свете этой гипотезы эффект от введения ингибиторов МАО заключается в нарушении нормального функционирования МАО, что приводит к накоплению серотонина в мозгу.

§ 2. Влияние на серотонин

§ 2. Влияние на серотонин

§ 2. Влияние на серотонин

§ 2. Влияние на серотонин



Наличие триптофангидроксилазной активности в мозге было продемонстрировано опытами с введением крысам и голубям меченого триптофана, в результате чего удалось обнаружить в мозгу меченый серотонин. Затем триптофангидроксилаза (ЕС 1.14.3.3) была найдена в мозгу собак, кроликов, крыс, а также в эпифизе млекопитающих и карциноидной ткани. Было установлено, что в процессе ферментативного окисления триптофана происходит внутримолекулярная миграция тритиевой метки:

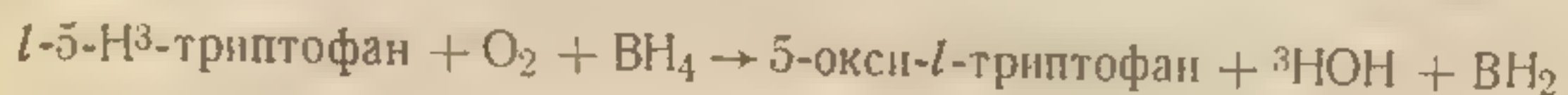


Таблица 23

| Структурное образование | Концентрация серотонина, мкг/г | Структурное образование      | Концентрация серотонина, мкг/г |
|-------------------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| <i>Крысы</i>            |                                | <i>Миндалина</i>             | 0,49                           |
| Спинной мозг:           |                                | Стриатум                     | 1,36                           |
| нижние отделы           | 0,73                           | Кора                         | 0,33; 0,65                     |
| верхние отделы          | 0,44                           |                              |                                |
| Столб мозга             | 0,52                           | <i>Мыши</i>                  |                                |
| Продолговатый мозг      | 1,03                           | Столб мозга                  | 0,7—0,85                       |
| Средний мозг            | 1,23                           | Средний и промежуточный мозг | 0,95—1,20                      |
| Гипоталамус             | 0,97; 2,64                     | Передний мозг                | 0,45—0,55                      |
| Таламус                 | 0,45                           |                              |                                |

Образующийся в ходе реакции 5-окситриптофан может быть измерен спектрофлуориметрическим методом.

Содержание серотонина в мозгу после нагрузки триптофаном почти не изменяется, однако при этом значительно возрастает уровень 5-ГИУК, что указывает на увеличение под влиянием триптофана скорости кругооборота серотонина в мозгу. Если замедлить инактивацию серотонина, применив для этого один из ингибиторов МАО, у животных возникают явные признаки возбуждения в ответ на введение даже небольшой дозы триптофана (порядка 5 мг/кг). В этих условиях наблюдается резкий подъем уровня серотонина в мозгу, с которым хорошо коррелирует выраженность поведенческого возбуждения.

Поскольку корреляция между скоростью кругооборота серотонина в мозгу и функциональной активностью серотонинергических систем мозга не наблюдается, предположили существование двух форм серотонина в нейрональных структурах мозга: функционально активной, на долю которой приходится меньшая часть медиатора, но изменения которой отражают функциональное состояние серотонинергической системы, и функционально неактивной, резервной. В условиях нагрузки триптофаном скорость синтеза серотонина возрастет, однако образующийся амин поступает преимущественно в резервный «пул», где служит источником пополнения запаса постоянно расходуемого функционально активного «пула».

В свете этой гипотезы эффект резерпина, способного, как известно, опустошать запасы катехоламинов и серотонина в мозгу, можно рассматривать как следствие нарушения нормальной функции малого физиологически активного пула. Ингибирование МАО препятствует развитию эффекта резерпина, предохраняя от разрушения медиатор, находящийся в функционально активной форме.

## § 2. Влияние психотропных веществ на серотонинергическую систему

В 1966 г. было обнаружено, что галогенпроизводное аминокислоты фенилаланина, а именно *n*-хлорфенилаланин (*n*-ХФА), избирательно снижает содержание серотонина в мозгу животных, при-



чем этот эффект связан с ингибированием ферментативного превращения триптофана в 5-ГТФ, обеспечиваемого триптофангидроксилазой. Исследования с введением крысам меченого триптофана показали, что образование в этих условиях меченого серотонина в мозгу резко замедлено. Иные соотношения были обнаружены в эпифизе, где также содержится много серотонина. Уровень амина в ответ на введение *n*-ХФА резко снижается, однако способность эпифиза синтезировать серотонин сохраняется. Активность триптофангидроксилазы мозга при введении крысам 300 мг/кг *n*-ХФА снижается через 4 ч до 50% исходной величины, а через сутки ингибирование фермента достигает 100%. Хотя *n*-ХФА не является абсолютно специфичным для триптофангидроксилазы мозга, поскольку известно, что он ингибирует также фенилаланингидроксилазу печени, это вещество представляет большой интерес для фармакологического анализа, так как позволяет получать у животных модельное состояние с низким содержанием серотонина в мозгу.

Такая модель выгодно отличается от получаемых другими способами состояний с пониженным уровнем серотонина. В самом деле, применение резерпина или других подобных ему веществ приводит к неизбирательному снижению содержания серотонина: одновременно сниженным оказывается содержание и других аминов — норадреналина, дофамина. Используя методику локального разрушения богатых серотонином структур мозга (ядра шва среднего и продолговатого мозга), исследователь повреждает целостность мозга, нередко затрагивая несеротониновые образования. Наконец, применение диеты с низким содержанием триптофана может повлечь за собой ряд трудно контролируемых последствий неполноценного питания. В последнее время было показано, что некоторые структурно близкие к серотонину вещества, в частности, 5,6-диокситриптами, имеющий дополнительный радикал в положении 6 индольного цикла, обладают свойством избирательно накапливаться в серотонинергических нейронах и вызывать их деструкцию. Этот прием также стал использоваться в качестве экспериментальной модели недостаточности центральных серотонинергических систем, однако наблюдаемое при этом разрушение серотониновых нейронов оказывается далеко неполным.

Повышение содержания серотонина в мозгу или усиление его функции может быть достигнуто несколькими способами: применением нагрузки метаболитическими предшественниками серотонина — триптофана или 5-ГТФ; использованием веществ, имитирующих эффект серотонина в области рецептора (серотониномиметики); ингибированием обратного захвата медиатора, что ведет к увеличению его концентрации в области рецептора; ингибированием МАО — фермента, инактивирующего серотонин.

Интересные данные были получены при изучении роли серотонинергического компонента в механизме действия трициклических антидепрессантов. Оказалось, что состояние центральных серотонинергических процессов в значительной степени определяется активностью триптофанпирролазы печени — фермента, регулирующе-

## § 1. Биохимия гам

Первые сообщения о том, что в ГАМК), относятся к 1950 г. С этого времени биохимическая природа ГАМК в физиологии и патологии была выяснена. Изучению биохимических путей ее синтеза и ее превращений в ГАМК и ее производных для физиологических и фармакологических исследований посвящено много работ. И. А. Сытинский, 1972, 1977, представил ее метаболизм. ГАМК является одним из основных нейротрансмиттеров, причем этот пептид в аспарагиновую кислоту превращается в аспарагиновую кислоту. ГАМК — это гамма-аминобутирическая кислота, которая образуется из глутамата, причем этот процесс происходит в аспарагиновой кислотной трансаминазе (ГАМК-Т). ГАМК-Т — это фермент, который катализирует превращение глутамата в ГАМК. ГАМК-Т широко распространена в мозге и может подвергаться деградации в процессе метаболизма ГАМК. В ГАМК, образующиеся так и следующие схемы (схема 1



го распределение незаменимой аминокислоты триптофана по основным путям метаболизма — серотониновому и кинурениновому. Антидепрессанты типа имипрамина в отличие от нейролептиков аминазина и галоперидола угнетают триптофанпирролазную активность печени, усиливая тем самым центральные серотонинергические процессы. Роль усиления серотонинергической системы мозга в механизме тимоаналептического эффекта антидепрессантов подтверждается также наблюдениями, что сам триптофан — биологический предшественник серотонина, обладает свойствами антидепрессанта, хотя в отличие от имипрамина и его аналогов не проявляет антагонизма с резерпином или синергизма с фенамином, т. е. лишен адренопозитивных свойств (И. П. Лапин, 1970).

Многочисленные морфологические, биохимические, физиологические, наконец, фармакологические данные о роли серотонинергических систем в деятельности мозга как в нормальных условиях, так и при патологии образуют гигантскую мозаичную картину, отдельные фрагменты которой выглядят достаточно стройными, хотя и не всегда согласуются друг с другом. Опыт 20-летнего изучения серотонина в мозгу и достигнутый в этой области прогресс позволяют надеяться, что функции этого амина в поддержании гомеостаза ЦНС удастся в недалеком будущем расшифровать.

#### ГЛАВА 4

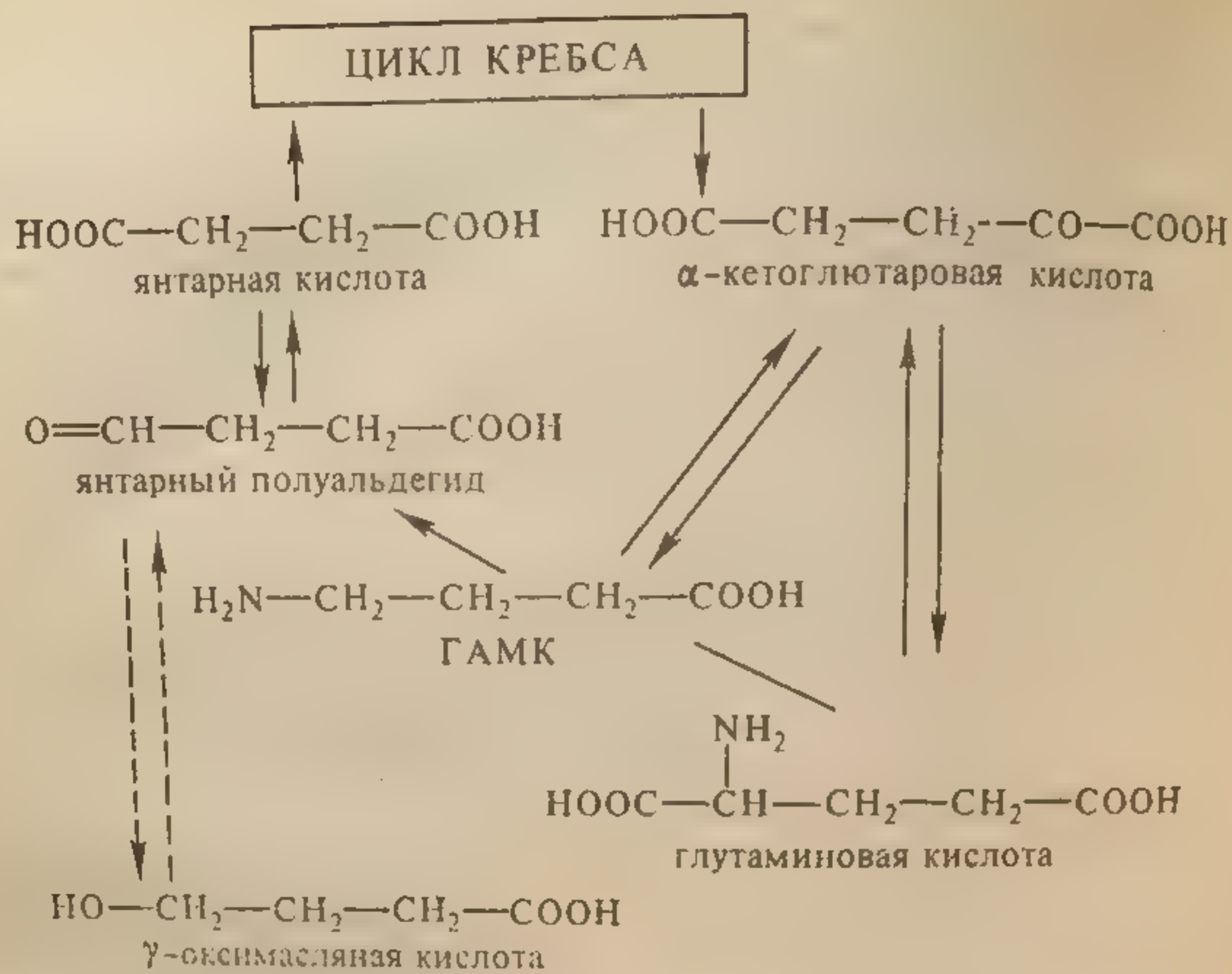
#### ГАМКЕРГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ В ДЕЙСТВИИ ПСИХОТРОПНЫХ СРЕДСТВ

##### § 1. Биохимия гамкергической системы ЦНС

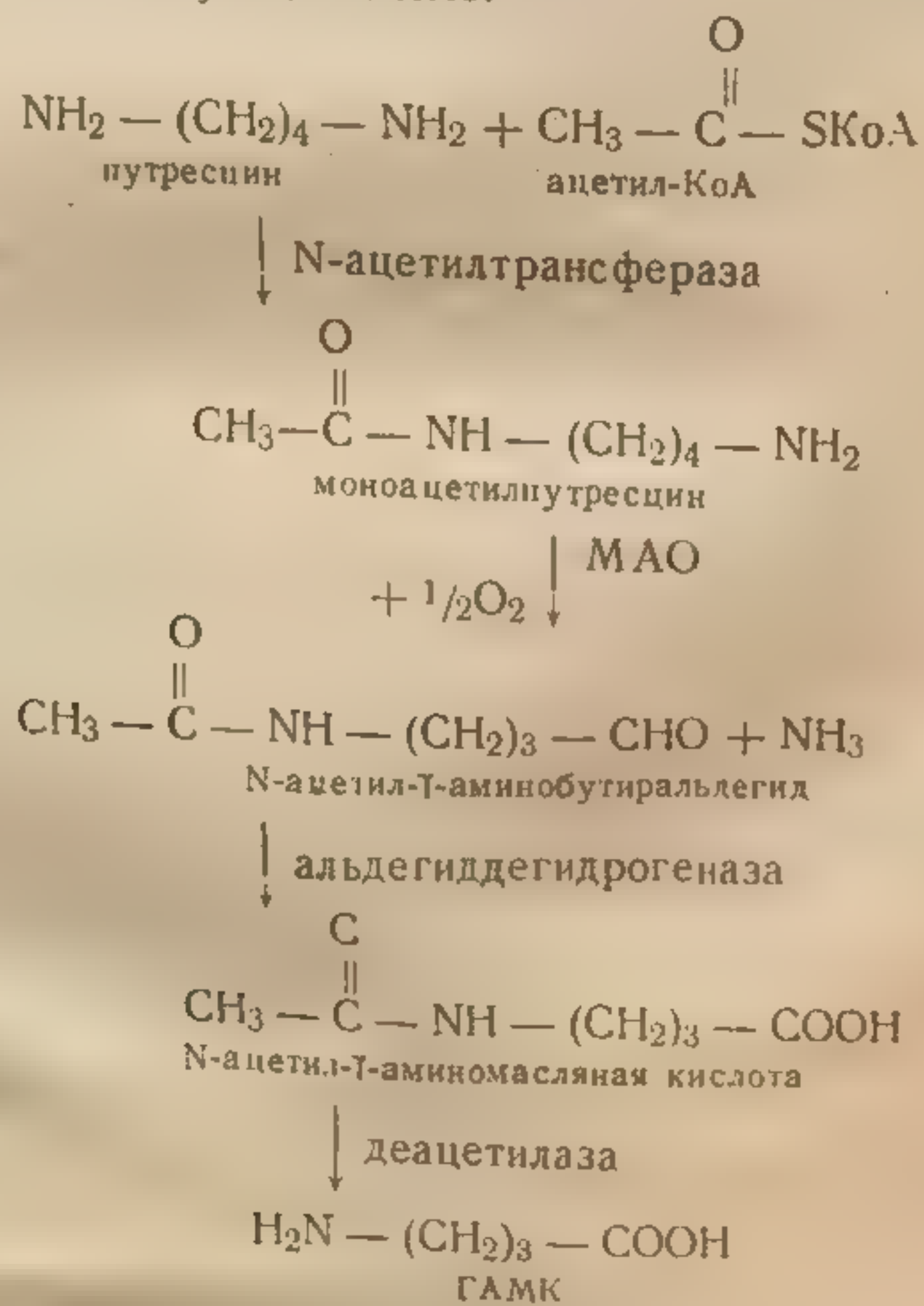
Первые сообщения о том, что в мозгу содержится  $\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК), относятся к 1950 г. С этого времени ведутся интенсивные исследования по выяснению биохимической природы ГАМК и ее превращений, роли этой аминокислоты в физиологии и патологии мозга, наконец, возможностей использования ГАМК и ее производных для создания новых нейротропных веществ.

Изучению биохимических превращений ГАМК в нервной ткани посвящены многочисленные исследования, обобщенные в ряде обстоятельных публикаций (И. А. Сытинский, 1972, 1977; Roberts et al., 1976). Для понимания возможных физиологических и фармакологических эффектов ГАМК необходимо вкратце представить ее метаболизм. ГАМК образуется в мозгу путем декарбоксилирования глутамата, причем этот путь превращения, по-видимому, побочный, так как на его долю приходится только 8—10% глутамата, большая часть которого превращается в аспарагиновую кислоту. Последующее превращение ГАМК — это реакция ее переаминирования с  $\alpha$ -кетоглутаратом, в результате чего образуется полуальдегид янтарной кислоты и глутамат. Ферменты, участвующие в основных превращениях ГАМК — глутаматдекарбоксилаза (ГДК, ЕС 4.1.1.15) и  $\alpha$ -кетоглутараттрансаминаза (ГАМК-Т, ЕС 2.6.1.19), являются по своей природе пиридоксальными и могут подвергаться ингибированию карбонильными реагентами типа гидроксиламина и производных гидразида, что приводит к нарушению нормального метаболизма ГАМК. В общем виде основные метаболические превращения ГАМК, образующие так называемый цикл Робертса, можно представить в виде следующей схемы (схема 11):





В последнее время появились данные о существовании иного пути образования ГАМК в мозгу. Предшественником ГАМК, как оказалось, может служить биогенный диамин путресцин, или 1,4-диаминобутан. Превращение последнего в ГАМК происходит по следующей схеме:



По образному выражению одного из исследователей с момента его обнаружения в биохимическом курьеза и физиологическом медиатора в центральной нервной системе лет, прежде чем физиологам и фармакологам ЦНС млекопитающих и в мозговой ткани обнаружены свои тормозные свойства (ГАМК), γ-аминобутирилхолин, γ-гидроксибутирилгистидин).

Сведения о противосудорожных свойствах ГАМК для попытки применения в лечении остаточных явлений повышенного артериального давления препараты гаммалон (ГАМК) и гамма-аминобутирилхолин остаются не вполне ясными. Препараты не проникают через гематоэнцефалический барьер, в основе лечебного эффекта ГАМК действие, проявляющееся, в частности, объяснения противосудорожного действия о частичной проницаемости гематоэнцефалического барьера. В любом случае у больных эпилепсией дозы ГАМК при хроническом Хантингтонии ГАМК ее содержание в мозгу. Данные о центральных нейротропных свойствах ГАМК при обильном употреблении уже упоминавшихся соединений исследователям удалось обнаружить эффекты больших доз ГАМК, в электрофизиологических опытах в условиях непосредственного нанесения монофоретическом подведении к отсечению. Таким образом, ГАМК нельзя считать своеобразной «моделью» для изучения, которая в отличие от ГАМК хороша своей известностью получила.

## § 2. Аналог как потенциал

Аналогами ГАМК, способными преодолевать гематоэнцефалический барьер, являются лозепам, обладающий свойствами ГАМК, а также баклофен (1,4-дигидро-2-пиридин-3-ил-этанол), который представляет собой средство, интересующее Роберта — полуальдегид ГАМК на пути ее окисления. Характеризуется выраженной неустойчивостью этого соединения, поэтому его в клинике использовать не удается. Все изложенное позволяет считать изучение ГАМК перспективным.



По образному выражению одного из открывателей ГАМК Робертса, это вещество с момента его обнаружения в мозгу млекопитающих «прошло путь от биохимического курьеза и физиологической загадки до положения главного тормозного медиатора в центральной нервной системе позвоночных». Прошло несколько лет, прежде чем физиологам удалось показать тормозной эффект ГАМК на нейронах ЦНС млекопитающих и возбуждающее действие в области нервно-мышечного синапса ракообразных.

В мозговой ткани обнаружены близкие по структуре к ГАМК соединения, также обладающие тормозными свойствами:  $\gamma$ -амино- $\beta$ -оксимасляная кислота (БОГАМК),  $\gamma$ -аминобутирилхолин,  $\gamma$ -гуанидиномасляная кислота и гомокарнозин ( $\gamma$ -аминобутирилгистидин).

Сведения о противосудорожных свойствах ГАМК и ее производных послужили основанием для попытки применить эти вещества в лечении больных эпилепсией. Имеются данные об успешном применении ГАМК в неврологии и терапии для лечения остаточных явлений мозговых инсультов, а также для снижения повышенного артериального давления. С этой целью выпущены коммерческие препараты гаммалон (ГАМК) и гамибетал (БОГАМК). Механизм действия этих препаратов остается не вполне ясным, если принять во внимание, что они практически не проникают через гематоэнцефалический барьер. Можно полагать, что в основе лечебного эффекта ГАМК лежит периферическое сосудорасширяющее действие, проявляющееся, в частности, по отношению к сосудам мозга. Для объяснения противосудорожного эффекта ГАМК высказывается предположение о частичной проницаемости гематоэнцефалического барьера для ГАМК во всяком случае у больных эпилепсией. Имеются данные об эффективности больших доз ГАМК при хоре Хантингтона. Известно, что при парентеральном введении ГАМК ее содержание в мозгу животных повышается. Наряду с этим сведения о центральных нейротропных эффектах ГАМК противоречивы. По мнению большинства авторов, ГАМК при обычных путях введения не эффективна. Однако помимо уже упоминавшихся сообщений о противосудорожном действии некоторым исследователям удалось наблюдать центральные фармакологические эффекты больших доз ГАМК, в частности углубление нембуталового сна. В электрофизиологических опытах тормозные эффекты ГАМК проявлялись в условиях непосредственного нанесения раствора на поверхность мозга или при ионофоретическом подведении к отдельным нейронам.

Таким образом, ГАМК нельзя рассматривать как типичное нейротропное средство. Однако, являясь важным метаболитом нервной ткани, ГАМК может служить своеобразной «моделью» для создания новых лекарственных веществ, которые в отличие от ГАМК хорошо проникали бы в мозг. Среди таких веществ наибольшую известность получила  $\gamma$ -оксимасляная кислота (ГОМК).

## § 2. Аналоги и производные ГАМК как потенциальные нейротропные средства

Аналогами ГАМК, способными проникать через гематоэнцефалический барьер, являются фенибут ( $\beta$ -фенил- $\gamma$ -аминомасляная кислота), обладающий свойствами транквилизатора и его хлорсодержащий аналог баклофен (Р. А. Хаунина, И. П. Лапин, 1976).

Значительный интерес в качестве потенциального нейротропного средства представляет один из промежуточных продуктов цикла Робертса — полуальдегид янтарной кислоты, образующийся из ГАМК на пути ее окисления в янтарную кислоту. Это соединение характеризуется выраженными нейротропными свойствами и превосходит ГАМК по силе антигипоксического эффекта. Химическая неустойчивость этого соединения не позволяет, к сожалению, использовать его в клинике.

Все изложенное позволяет прийти к выводу, что фармакологическое изучение ГАМК представляется перспективным в нескольких

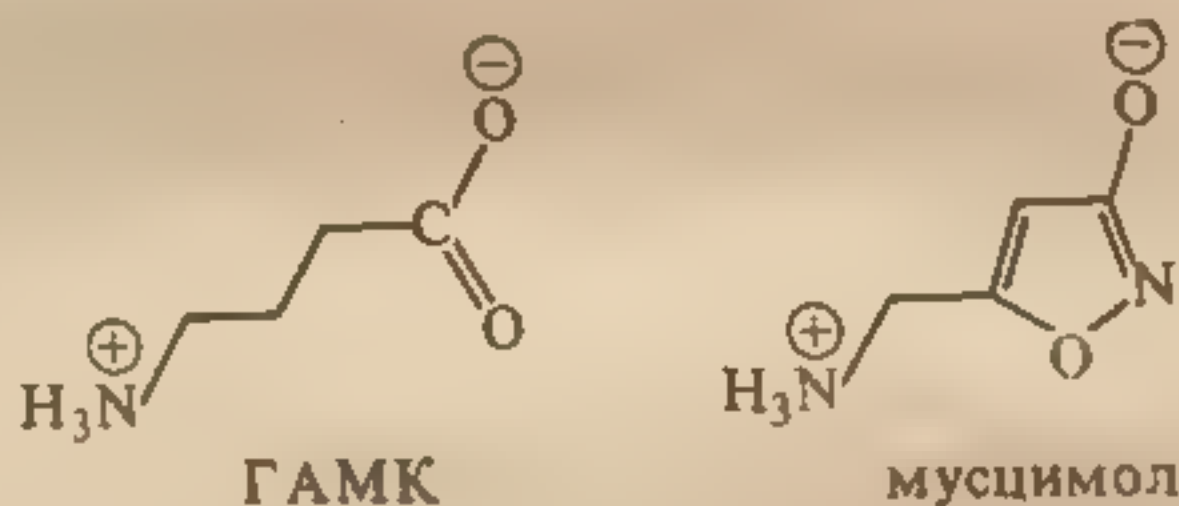


направлениях: 1) поиски веществ, обладающих активностью ГАМК, но в отличие от последней хорошо проникающих в мозг (ГАМК-миметики); 2) создание синтетическим путем химических модификаций молекулы ГАМК для получения соединений с высокой нейротропной активностью; 3) изыскание путей воздействия на метаболизм ГАМК с тем, чтобы повысить содержание аминокислоты в мозговой ткани и тем самым усилить ее физиологический эффект.

Один из возможных путей получения производных ГАМК, способных проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), является синтез липофильных соединений, в частности эфиров ГАМК. Примером такого соединения может служить цетиловый эфир ГАМК, проявляющий выраженную нейротропную активность уже в дозах 5—10 мг/кг, что свидетельствует о хорошем проникновении препарата в мозг.

Перспективными оказались поиски новых высокоактивных транквилизаторов на основе изучения закономерностей связи между структурой и физико-химическими параметрами соединений бензодиазепинового ряда. Результатом этих исследований явилось создание оригинального отечественного транквилизатора феназепама, значительно превосходящего по своей активности диазепам. ГАМК-ергическая природа транквилизирующего эффекта феназепама подтверждается тем, что блокатор ГАМК-рецепторов бикукуллин проявляет по отношению к нему отчетливый антагонистический эффект.

К числу ГАМК-миметических веществ относится также мусцимол, алкалоид, выделенный из мухоморов (*Amanita muscaria*), в которых, как известно, содержится мускарин. Мусцимол и его производные являются структурными аналогами ГАМК с жесткой конформацией:



В химическом отношении эти соединения относятся к производным изоксазола, у которых четырехчленная углеродная цепочка, характерная для структуры ГАМК, оказывается частично «встроенной» в жесткую кольцевую систему гетероцикла. Мусцимол и некоторые его аналоги, сохраняющие структурное сходство с ГАМК, способны воспроизводить физиологический эффект ГАМК. При ионофоретическом подведении с помощью микропипетки они вызывают угнетение частоты разрядов вставочных нейронов спинного мозга кошки, причем этот эффект устраняется бикукуллином — веществом, блокирующим ГАМК-ергические рецепторы. Удлинение или значительное разветвление боковой цепи соединений ведет к потере специфического тормозного эффекта.

Для взаимодействия с ГАМК-рецептором важное значение име-



ет внутримолекулярное расстояние между зарядами у атомов азота и кислорода в молекуле аналогов ГАМК. Для веществ, обладающих ГАМК-миметическими свойствами, это расстояние имеет величину, близкую к соответствующему значению ГАМК (5,772 Å). Производное аминокaproновой кислоты с расстоянием N—O, равным 7,925 Å, совершенно лишено ГАМК-подобного эффекта.

Использование конформационно-жестких структурных аналогов медиаторов позволяет в ряде случаев приблизиться к пониманию молекулярного механизма взаимодействия медиатора с рецептором, так как с помощью этого метода удастся моделировать предполагаемую «активную» конформацию медиатора в области рецептора.

Другое направление исследований в области нейрофармакологии ГАМК предусматривает поиски веществ, способных избирательно вмешиваться в то или иное звено на пути метаболических превращений аминокислоты с тем, чтобы замедлить ее синтез или инактивацию. Как видно из схемы синтеза ГАМК, основным ферментом, лимитирующим скорость ее образования, является ГДК. Ингибирование этого фермента сопровождается снижением концентрации ГАМК в мозгу и появлением у животных клоникотонических судорог. Противоположный эффект — накопление ГАМК в мозговой ткани, наблюдается в случае ингибирования фермента ГАМК-Т, обеспечивающего переаминирование ГАМК с  $\alpha$ -кетоглутаратом с образованием глутамата и янтарного полуальдегида.

К веществам первого типа относятся судорожные гидразиды — изониазид, семикарбазид — и чаще других используемый в модельных экспериментах тиосемикарбазид (ТСК). Все эти вещества вызывают у животных судороги, связанные с дефицитом образования ГАМК вследствие ингибирования ГДК. Этот фермент содержится в цитоплазме нейронов ЦНС, преимущественно в сером веществе мозга. Фермент, полученный из мозга мышей и очищенный имеет молекулярную массу около 85 000 и оптимальное значение pH 7,0. По предварительным данным фермент представляет собой гексамер, состоящий из субъединиц, каждая из которых имеет молекулярную массу 15 000.

Характерная особенность ГДК, как показали иммунохимические исследования, — отсутствие существенных межвидовых отличий. Еще не удалось найти достаточно избирательных ингибиторов ГДК, которые позволили бы получать снижение уровня ГАМК в эксперименте, необходимое для анализа физиологической и фармакологической роли ГАМК-ергических процессов. Недостатком существующих ингибиторов ГДК, в частности ТСК, является присущее им влияние на другие ферментные системы, включая ГАМК-Т, которая, как и ГДК, относится к пиридоксальвым ферментам. Относительная избирательность в угнетении ГДК и ГАМК-Т все же существует, поскольку одни ингибиторы оказываются судорожными агентами, а другие, угнетающие преимущественно ГАМК-Т, способны проявлять противосудорожный эффект. К последним относятся аминокснуксусная кислота (АОСК) и н-дипропилацетат (н-ДПА), получивший коммерческое название депакин.



Молекулярная масса ГАМК-Т, как показали специальные исследования, равна 109 000, а оптимум рН составляет 8,05. Фермент, по-видимому, не специфичен по отношению к ГАМК как субстрату переаминирования и может играть важную роль в метаболизме  $\omega$ -аминокислот ( $\beta$ -аланин,  $\delta$ -аминовалериановая и  $\beta$ -аминоизомасляная кислоты могут быть активными донорами аминокруппы в реакциях, катализируемых ГАМК-Т). ГАМК-Т обладает высокой видовой специфичностью.

В отличие от ГДК, локализованной преимущественно в нервных терминалях ГАМК-ергических нейронов, ГАМК-Т широко распределена в нервной ткани. Она содержится в митохондриях нейронов и нервных окончаний, а также и вненейронально, особенно в местах, где имеет место синаптическое высвобождение ГАМК, т. е. в дендритах, перикарии и, возможно, в прилежащих глиальных и эндотелиальных клетках.

В фармакологическом плане ГАМК-Т представляет интерес в связи с возможностью применения ее ингибиторов как потенциальных ГАМК-позитивных веществ. Первым из таких препаратов, получивших клиническое использование в лечении эпилепсии, оказался н-ДПА. Это вещество вызывает умеренное увеличение содержания ГАМК в мозгу животных и одновременно проявляет противосудорожный эффект, однако полной корреляции последнего с выраженностью ингибирования ГАМК-Т не было найдено.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Аничков С. В. Избирательное действие медиаторных средств. — Л.: Медицина, 1974.
- Закусов В. В. Фармакология центральных синапсов. — М.: Медицина, 1973.
- Закусов В. В. Фармакология моноаминергических процессов. — М.: Медицина, 1971.
- Машковский М. Д. Хим.-фармац., 1976, т. 10, № 7, с. 3—8.
- Попова Н. К., Науменко Е. В., Колпаков В. Г. Серотин и поведение. — Новосибирск.: Наука, 1978.
- Раевский К. С. Фармакология нейролептиков. — М.: Медицина, 1976.
- Хаунина Р. А., Лалин И. П. Хим.-фармац. ж., 1976, т. 10, № 12, с. 125—127.
- Iversen L. L. Biochem. Pharmacol., 1974, v. 23, p. 1927—1935.
- Iversen L. L. Science, 1975, v. 188, N 4193, p. 1084—1089.
- Frontiers in Catecholamine research/Ed. S. Snyder, E. Usdin. — N.-Y.: Pergamon Press, 1974.
- Choline and Acetylcholine: Handbook of Chemical Assay Methods/Ed. I. Hanin. — N.-Y.: Raven Press, 1974.
- Serotonin and Behavior/Ed. I. Barchas, E. Usdin — N.-Y., London.: Acad. Press, 1973.

НУКЛЕИ  
И ЛЕКАРСТ

По мере проникновения в  
ний простейшей (и в то ж  
клетки — все более выявл  
всех процессах жизнедея  
сосредоточена основная  
(ДНК), несущей в структ  
всю генетическую инфор  
и развития клетки.

Важнейшие для жизни  
нуклеиновых кислот — с  
ных белков, происходят  
матин эукариотов (сумм  
питающих) представляе  
лярную структуру. В ос  
ДНК, которая связана с  
ся комплексами катион  
белков, РНК и некоторы  
поненты хроматина: 30  
кислоторастворимых б  
10% РНК (И. П. Ашма  
Гистоны и кислые  
ной активности, репре  
в процессе развития и  
ДНК быть матрицей д  
В результате обмен  
ные соединения, в том  
тия, так называемые э  
цирующие наступлен  
их появления и проник  
ределенными репрессор  
нового участка ДНК, и  
участка, или оба процес  
та ДНК выдает новую  
вые белки — ферменты



## ЧАСТЬ V

### НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ВЕЩЕСТВА

По мере проникновения в молекулярные основы жизненных явлений простейшей (и в то же время — сложнейшей) формы жизни — клетки — все более выявляется роль и значение клеточного ядра во всех процессах жизнедеятельности клетки. Именно в ядре клетки сосредоточена основная масса дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), несущей в структуре своих молекул в закодированном виде всю генетическую информацию, необходимую для существования и развития клетки.

Важнейшие для жизни клетки процессы, связанные с обменом нуклеиновых кислот — синтез ДНК, различных видов РНК и ядерных белков, происходят в хроматине ядер клеток. По строению хроматин эукариотов (суммарный материал хромосом из тканей млекопитающих) представляет собой сложноорганизованную надмолекулярную структуру. В основе ее лежит двухцепочечная молекула ДНК, которая связана с более или менее регулярно повторяющимися комплексами катионных белков, а также с целым рядом иных белков, РНК и некоторыми другими соединениями. Главные компоненты хроматина: 30—45% ДНК; 30—50% гистонов — основных кислоторастворимых белков; 4—33% негистоновых белков и 1,5—10% РНК (И. П. Ашмарин, 1977).

Гистоны и кислые белки хроматина участвуют в регуляции генной активности, репрессии и депрессии отдельных участков ДНК в процессе развития и дифференциации ядра в составе клетки.

Добавление гистонов к ДНК значительно снижает способность ДНК быть матрицей для ДНК-зависимого синтеза РНК и ДНК.

В результате обмена веществ в клетке образуются многочисленные соединения, в том числе и специфические для процесса развития, так называемые эффекторы, или триггеры, т. е. вещества, инициирующие наступление новой фазы развития. Только в результате их появления и проникновения в ядро клетки, взаимодействия с определенными репрессорами наступает освобождение от репрессора нового участка ДНК, или блокирование ранее функционировавшего участка, или оба процесса протекают одновременно. С этого момента ДНК выдает новую информацию и в клетке синтезируются новые белки — ферменты; клетка вступает в новую фазу развития.







## ГЛАВА 1

### ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ВЕЩЕСТВА

#### § 1. Строение ДНК и методы ее исследования

Согласно точке зрения Уотсона и Крика, молекула ДНК представляет собой линейный полимер, в котором последовательные пуриновые и пиримидиновые основания связаны фосфатными группами. Две полинуклеотидные нити антипараллельны и закручены вокруг общей оси в спираль.

Образование пар между пуринами и пиримидинами в спирали строго специфично: аденин (А) образует пару только с тиминном (Т), а гуанин (Г) — только с цитозином (Ц). Следовательно, порядок чередования оснований в одной нити однозначно определяет их последовательность в другой, т. е. цепочки являются комплементарными, хотя могут и не иметь идентичный состав. Последовательность оснований в одной нити определяется видом организма. Цепочки фиксированы одна относительно другой за счет водородных связей, соединяющих попарно пары оснований. В результате оказывается, что фосфорные и углеводные остатки расположены на наружной стороне спирали, а основания — внутри нее и перпендикулярны к оси цепочки.

Исходя из этих положений можно рассчитать модель, целиком удовлетворяющую экспериментальным данным. Атомы фосфора расположены от оси молекулы на расстоянии 10 Å; следовательно, толщина двунитчатой структуры 20 Å; периодичность наблюдается через 34 Å, нуклеотиды располагаются через 3,4 Å.

Описанное строение ДНК в виде двунитчатой спирали удовлетворительно объясняет многие ее свойства. Более того, данные рентгеноструктурного анализа, полученные на интактном биологическом материале, например на головках сперматозоидов, позволяют считать, что спиральное строение характерно не только для ДНК, выделенной из клетки, но и ДНК, находящейся в живой клетке (Дэвидсон, 1968).

В обычных условиях макромолекула ДНК — жесткая фибриллярная структура из двух цепочек, свитых в двойную спираль Уотсона — Крика, имеющая первичную, вторичную и третичную структуры.

Стабильность двойных спиралей нуклеиновых кислот поддерживается не только внутримолекулярными водородными связями, но и обычными кооперативными связями ван-дер-ваальсовского взаимодействия соседних азотистых оснований. Кроме того, при рассмотрении сил, стабилизирующих ДНК, надо учитывать энергию взаимодействия ДНК с водой. Остается еще невыясненным значение гидрофобных взаимодействий. Высокая упорядоченность гидратационной и структурированной воды отвечает за целый ряд физико-химических свойств ДНК.

Стабильность и конформация макромолекул полиэлектролитов зависят от pH среды, изменяющейся во многих случаях в присутствии фармакологических агентов.

Двойную спираль ДНК следует рассматривать как систему, для которой при относительном постоянстве общей «архитектуры» (вторичной структуры) характерны довольно значительные изменения структурных параметров.

Выделяют несколько форм спиралей ДНК в волокнах (В-, А-, С- и Т-формы), которые можно обнаружить различными физико-химическими методами.

Электронная микроскопия препаратов ДНК, выделенных из различных источников, а также данные по рассеянию рентгеновского излучения молекулами ДНК в растворе показали, что диаметр молекулы ДНК составляет приблизительно 20 Å, т. е. соответствует диаметру двойных спиралей ДНК в волокнах.

Денатурация, или изменение нативности, ДНК происходит при изменении температуры или состава растворителя — добавлении в среду различных химических веществ (кислот, щелочей, лекарственных препаратов). При этом наблюдаются резкие изменения ряда свойств растворов ДНК, в частности гидродинамических и оптических. Уменьшается вязкость, увеличивается интенсивность поглощения света, особенно в области с длиной волны 260 мкм.

Доказано, что все эти явления обусловлены разделением двуниточной спира-



ли ДНК на две независимые нити, которые сразу же после расплетания сворачиваются в беспорядочные клубки. Такой структурный переход (спираль — клубок) называют обычно денатурацией ДНК.

Критерием денатурации служит температура структурного перехода или, как ее часто называют, температура «плавления» ( $T_{пл}$ ).

Можно предположить, что механизмы процессов редупликации хромосом, синтеза РНК на ДНК и первой стадии денатурации ДНК в растворе сходны в своей основе.

Регистрация изменений структуры нуклеиновых кислот производится с помощью определения различных физико-химических характеристик макромолекул с использованием методов молекулярной биологии.

Естественно, моделирование в растворе позволяет широко варьировать экспериментальные условия и более детально изучать различные стороны наблюдаемых явлений.

Лекарственные препараты могут за счет влияния на электронное распределение, pH, межплоскостные взаимодействия и другие параметры существенно изменять спектры поглощения нуклеиновых кислот. Анализ спектров поглощения во многих случаях относится к эффективным способам получения быстрой и точной информации о взаимодействии между лекарственными препаратами и биомacroмолекулами.

К методам изучения вторичной структуры нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов относятся методы кругового дихроизма (КД), дисперсии оптического вращения (ДОВ) и метод дифференциальной тепловой денатурации. Используют метод тепловой дифференциальной денатурации по Фельзенфельду — Сандину, который позволяет отдельно оценить степень денатурации АТ и ГЦ пар оснований.

При денатурации разбавленного водного раствора ДНК нагреванием происходит переход спираль → клубок, заключающийся в том, что в двойной спирали ДНК под действием тепловых колебаний атомов разрываются водородные связи между АТ и ГЦ парами оснований. Переход сопровождается увеличением поглощения в ультрафиолетовой области, особенно при  $\lambda = 260$  нм. Анализ «кривой плавления» спирали ДНК позволяет судить о свойствах данной ДНК и возможном влиянии различных агентов на ее структуру.

Изучение действия лекарственных препаратов на третичную структуру биополимера можно также проводить различными методами. К наиболее часто применяемым относятся методы вискозиметрии, ультрацентрифугирования, электронной микроскопии, хроматографии и электрофореза.

Измерение характеристической вязкости — один из основных методов, позволяющих судить о степени асимметрии, молекулярной массе и в значительной мере о полимерности макромолекулы.

В определенных условиях (рН 7,0, концентрации ионов натрия 0,2 М и температуре 25°С) нативная ДНК имеет характерную и весьма стабильную конформацию. В результате этого можно довольно точно предсказать объем, который занимает молекула ДНК с данной молекулярной массой. Всякое заметное отклонение значений вязкости и коэффициента седиментации от величин, характерных для данной молекулярной массы, следует рассматривать как указание на отклонение от нормальной конформации, присущей данной нативной двуспиральной ДНК (Эйгнер, 1970).

Дегградацию ДНК, или, наоборот, образование сшивок под действием различных препаратов, также изучают различными методами. Например, диагностическим тестом на интеркаляцию является изучение гидродинамических свойств ДНК в присутствии какого-либо вещества — интеркалятора (обязательно с проведением вискозиметрического и седиментационного анализов).

В исследованиях *in vitro* в зависимости от поставленных задач помимо названных используют и другие методы, например ионообменную хроматографию на колонках, тонкослойную хроматографию, определение активности нуклеаз, электрофорез в полиакриламидном геле в сочетании с радионуклеотидными методами, иммунохимические методы анализа нуклеиновых кислот и др.

Информация о специфичности взаимодействия, стехиометрии, динамических состояниях нуклеиновых кислот может быть получена с использованием метода циркулярного дихроизма или резонансных методов (ЭПР, ЯМР) и т. д.

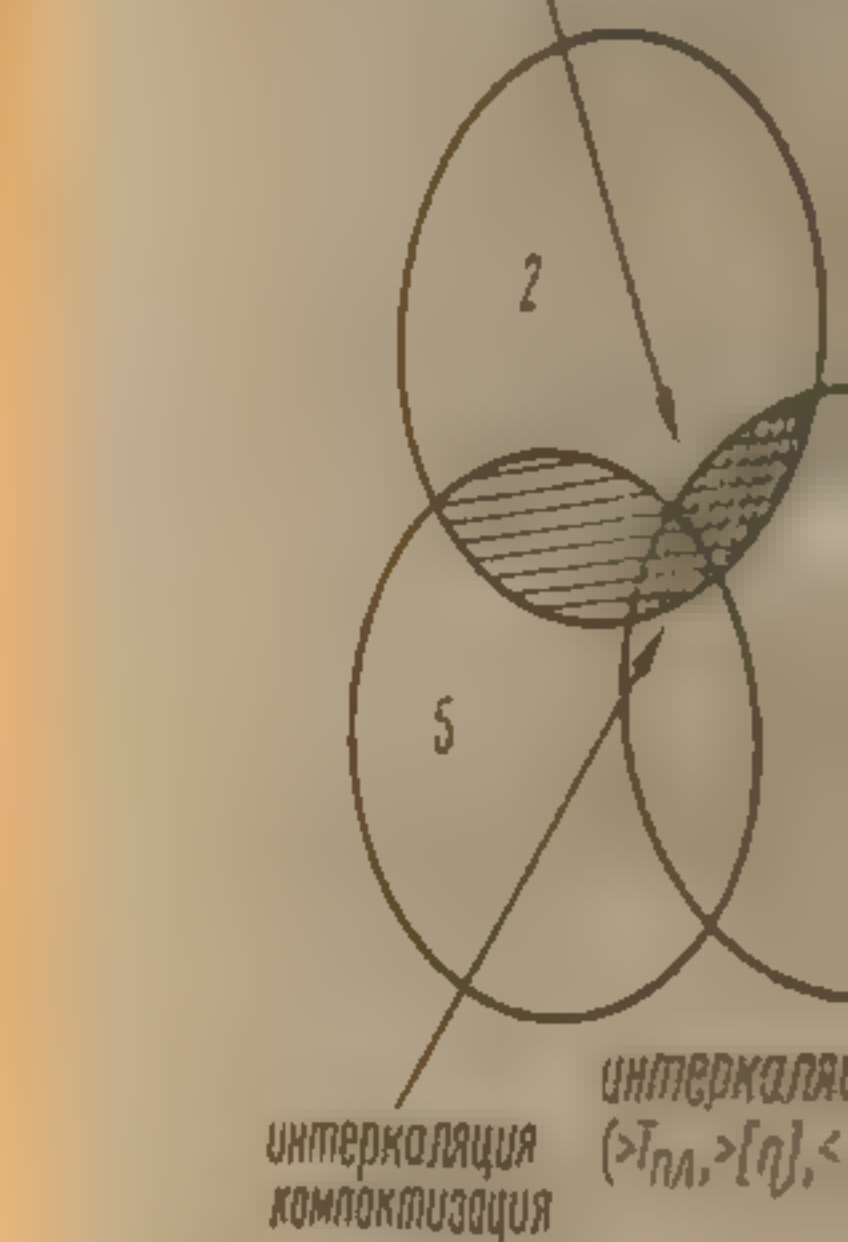


Рис. 23. Использование методов: 1 — метод теплового плавления; 3 — вискозиметрия; 5 — метод кругового дихроизма.

говорить о том, что вызывает конформационные изменения денатурации, частичную денатурацию сшивок (рис. 23). План экспериментальных исследований: 1) изучение распределения макромолекул; 2) исследование органов-мишеней после введения лекарственного препарата и выявления ее действия на активные центры лекарственной клетки. Изменение структуры генома, нарушение метаболизма, нарушение генетического кода, изменение активности ферментов, нарушение репродукции, нарушение репликации и транскрипции, нарушение действия различных теорий мутаций. Первый этап появления мутаций — повреждение молекулярных повр...



В опытах *in vitro* целесообразно проводить исследования по мере усложнения модельных систем, ■ именно изучение действия препаратов сначала на основаниях, входящие в состав нуклеиновых кислот, затем на однонитчатые препараты нуклеиновых кислот (т. е. различные виды РНК и денатурированную ДНК), после этого на препараты двунитчатых молекул ДНК различного происхождения ■ разных свойств (например, апуриновые и апириимидиновые ДНК) и, наконец, на белковые комплексы нуклеиновых кислот, ■ именно ДНП и рибосомы.

Только с учетом результатов, полученных после использования всех имеющихся методов оценки структуры ДНК, можно с определенной долей вероятности

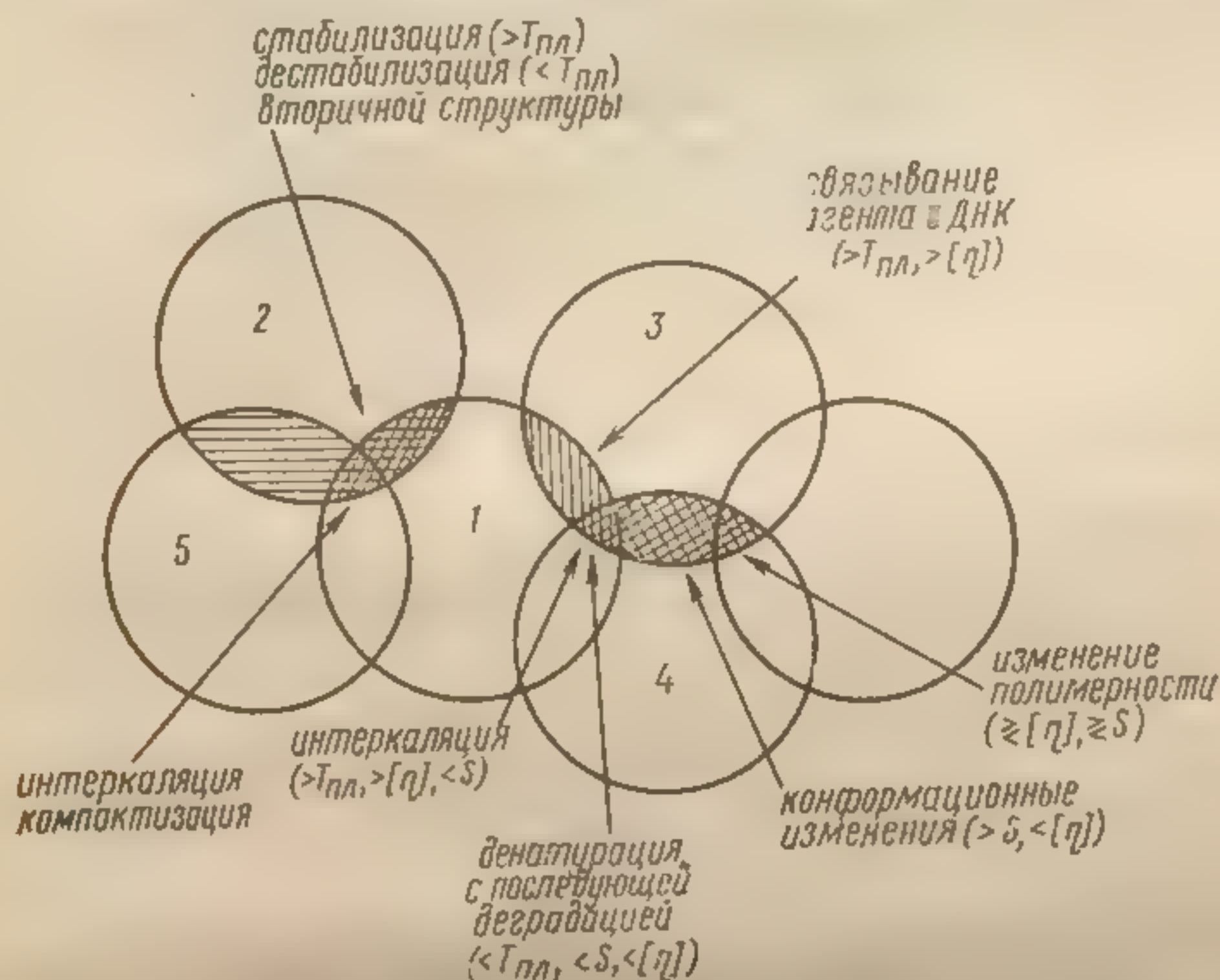


Рис. 23. Использование некоторых методов для выяснения структурных нарушений в ДНК:

1 — метод тепловой денатурации; 2 — УФ-спектрофотометрия; 3 — вискозиметрия; 4 — седиментационный анализ; 5 — метод кругового дихроизма и (или) дисперсия оптического вращения

говорить о том, что вызывает тот или иной фармакологический агент: изменение конформации, частичную денатурацию, деградацию, интеркаляцию и, наконец, образование сшивок (рис. 23).

План экспериментальных исследований по выяснению механизма действия фармакологических агентов на ДНК складывается из трех больших этапов: 1) изучение распределения меченого агента по органам, субклеточным фракциям и макромолекулам; 2) исследование свойств нуклеиновой кислоты, выделенной из органов-мишеней после предварительного введения фармакологического препарата и выявление ее основных изменений; 3) исследования в растворе ДНК.

Изменение структуры ДНК под влиянием непосредственного или косвенного действия активных лекарственных молекул неизбежно должно приводить к нарушению генетического кода и появлению мутантов ■ потомстве, а нарушение информации, необходимой для нормального синтеза ферментов, может вызвать нарушение метаболизма клетки вплоть до ее гибели.

Среди лекарственных препаратов, влияющих на процесс биосинтеза белка, различают вещества, действующие на различные стадии этого процесса. В основном будут рассмотрены препараты, оказывающие специфическое действие на репликацию и транскрипцию. Однако, прежде чем перейти к изложению механизмов действия различных препаратов, необходимо напомнить некоторые положения теории мутаций.

Первый этап появления мутации, по Н. П. Дубинину, — возникновение первичных молекулярных повреждений в хромосоме после взаимодействия между



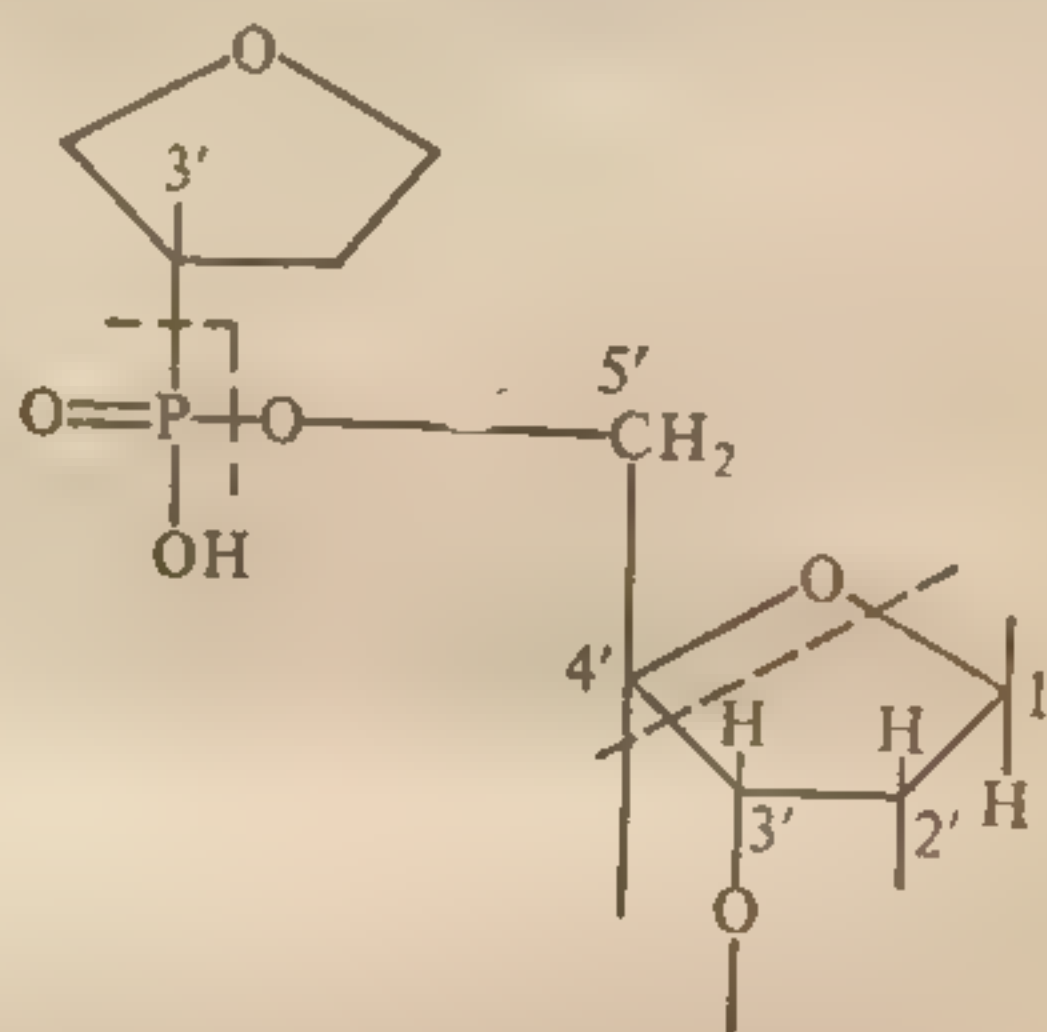
мутагеном и молекулой ДНК. Как известно, точечные (точковые или гэнные) мутации, т. е. затрагивающие отдельные нуклеотиды, делятся на делеции (выпадения), замены основания (транзиции и трансверзии) и вставки оснований (Banks, 1971).

При взаимодействии мутагенов с нуклеиновыми кислотами изменениям подвергаются как пуриновые, так и пиримидиновые основания.

К изменениям первичной структуры ДНК относятся гликозилирование, метилирование и внедрение неканонических оснований, что может приводить как к изменению ее мутабельности, так и конформации молекулы нуклеиновой кислоты, влияющей затем на распределение электронной плотности.

Модификации вторичной структуры нуклеиновых кислот следующие: одиночные или двойные разрывы нитей с последующим изменением молекулярной массы (деструкция нуклеиновой кислоты), внутримолекулярные и межнитевые сшивки, частичная или полная денатурация.

Разрывы подразделяют на единичные (не сопровождающиеся уменьшением молекулярной массы) и двойные (прямые и косые, с уменьшением молекулярной массы). По характеру разрываемых связей выделяют разрывы фосфодиэфирных и межуглеродных связей; по времени реализации — на истинные и потенциальные, что иллюстрируется ниже в виде пунктирных линий:



## § 2. Механизм действия некоторых генотропных веществ

Многие генотропные агенты действуют путем взаимодействия с ДНК. После исследования физико-химических свойств ДНК (изменение структуры) в присутствии таких ДНК-реактивных веществ следующим шагом, естественно, должно быть определение их эффектов на функции ДНК в клетке.

Накоплен большой фактический материал по взаимодействию различных фармакологических веществ с нуклеиновыми кислотами. Однако объем их столь значителен, что даже только отбор основных данных представляет трудность.

В литературе описано большое число препаратов, относящихся к различным классам, которые взаимодействуют с хромосомами, и также с входящими в их состав нуклеиновыми кислотами. Это алкилирующие агенты и противотуберкулезные препараты гидразинового ряда, противоопухолевые антибиотики и наркотические средства, галлюциногены и транквилизаторы, противомаларийные вещества, гормональные препараты и т. д.



Раньше противоопухолевые средства (главным образом антибиотики) условно делили на две группы: ингибиторы синтеза РНК и ингибиторы синтеза ДНК. Внедрение методов молекулярной биологии, расширение знаний о структуре и синтезе клеточных оболочек, о роли нуклеиновых кислот позволило выяснить точки приложения некоторых из этих веществ в бактериальной клетке и классифицировать их по механизмам первичного действия.

1. Лекарства, действующие на хромосомы:

А. Ингибиторы биосинтеза нуклеопротеидов: 1) аналоги пуринов (азагуанин, 5-меркаптопурин и др.); 2) аналоги пиримидинов (азаурацил, 5-фторурацил и др.); 3) антагонисты фолиевой кислоты (аминоптерин, аметоптерин и др.); 4) антагонисты глутамина, антагонисты аминокислот, антагонисты коэнзимов ■ витаминов; 5) аналоги гистонов.

Б. Алкилирующие агенты (радиомиметики); 1) монофункциональные агенты (сарколизин, циклофосфатид); 2) бифункциональные агенты (фосфамиды, милеран, нитрозогуаниды и др.).

В. Деполимеризаторы ДНК (производные метилгидразинов).

Г. Антибиотики.

Д. Интеркаляторы.

2. Лекарства, действующие на ахроматический аппарат клеток.

3. Смешанные агенты (Velasco Martin, 1971).

Многие генотропные агенты действуют на физико-химические свойства ДНК.

Существует гипотеза, вообще не признающая прямого поражения макромолекул как решающего события. Согласно этой гипотезе, в нормальной метаболизирующей клетке гигантские макромолекулы ДНК постоянно спонтанно претерпевают повреждения, и только в результате непрерывной работы восстанавливающих ферментов они сохраняют свою структуру. При действии каких-либо агентов нарушается процесс восстановления.

**Взаимодействие лекарственных веществ с ДНК.** Обнаружено большое число лекарств, связывающихся с ДНК. К ним относятся антибиотики (актиномицин Д, мирацил Д, антрамицин, ногаламицин, кордицепин, дауномицин, хромомицин А<sub>3</sub> и др.), шистозомициды, транквилизаторы, алкилирующие соединения ■ многие другие препараты.

Актиномицины наиболее исследованные противоопухолевые антибиотики. По своему строению они — хромопептиды с фенаксозоновой хромофорной группой, одинаковой у всех описанных до сих пор представителей этих веществ, и двумя депсипептидными цепями.

Функциональными группами актиномицина Д, необходимыми для биологической активности и для образования комплекса с ДНК являются аминокгруппа хромофора, невосстановленный хиноидный кислород и интактные циклические пентапептидные лактоны.

В низких концентрациях эти антибиотики специфически ингибируют ДНК-зависимый синтез РНК, но не синтез ДНК и заметно замедляют включение гуаниновых и цитозиновых остатков в растущую цепочку РНК.



Выяснилось, что: 1) наиболее чувствительны к действию актиномицинов те внутриклеточные процессы, которые происходят при непосредственном участии ДНК; 2) антибиотик избирательно концентрируется в ядре, соединяясь с ДНК; 3) актиномицин Д соединяется только с ДНК, обладающей специальной конфигурацией и содержащей гуанин (с денатурированной и апуриновой ДНК актиномицин Д не взаимодействует).

Рентгеноструктурные исследования показали, что актиномицин Д (АД) связывается с гуаниновыми остатками ДНК, образуя с ними водородные связи. Пептидная часть антибиотика связывается с малой бороздкой спирали ДНК.

Считают, что актиномицин Д обладает комбинированным действием: 1) хромофорная часть антибиотика интеркалирует между соседними парами оснований ДНК; 2) оба пептидных кольца располагаются в малой (внешней) бороздке ДНК, связываясь с  $2\text{NH}_2$ -группами дезоксигуаназина.

Дауномицин по механизму действия близок к актиномицину Д, хотя и имеет другое химическое строение (в отличие от него не обладающего зарядом, заряжен положительно). Механизм действия — интеркаляции плюс боковое связывание (нековалентное и необратимое).

Антибиотики митомициновой группы были без особого успеха испытаны как противоопухолевые препараты. В то же время для биохимиков, генетиков, вирусологов они оказались весьма ценными реагентами, позволяющими избирательно воздействовать на геном клетки. Наиболее часто в биохимических исследованиях применяется митомицин С.

Для проявления своих алкилирующих свойств молекула митомицина должна быть предварительно восстановлена в активную гидрохиноновую форму. Реакционные группы митомицина — это азиридиновое кольцо; третичная гидроксильная группа при С-9 и метилуретановая группа.

Было выдвинуто представление о проникновении митомицина С в пространстве между комплементарными спиралями ДНК и образовании затем молекулой антибиотика поперечной или «перекрестной» связи между спиралями. Новая ковалентная связь скрепляет комплементарные спирали ДНК значительно прочнее водородных связей.

Алкилирование ДНК восстановленным митомицином, химический механизм которого достаточно хорошо изучен, вызывает цепь вторичных событий. Распад ДНК под действием митомицина связан с удалением и репарацией алкилированных участков ДНК, происходящий под действием специфических ферментов-репараз, вырезающих «извращенные» участки молекулы ДНК. Подавление синтеза РНК и индуцируемых ферментов наступает значительно позже, чем подавление синтеза ДНК, и, по-видимому, вызывается нарушением целостности ДНК, вследствие которого она оказывается неспособной выполнять матричную функцию в процессе транскрипции. Изменение морфологии клетки и нарушение многих клеточных функций может быть связано с цепью летальных или сублетальных событий, начинающихся также с моно- или бифункционального алкилирования ДНК (Parthier, 1969).

Установлено, что тактильный, профлавиновый, антипролаирическое средство хлорофилла двунитчатой спирали характер.

Ранее предполагали, что же спермин, стрептомицин, диамин (например, иридин) взаимодействуют с ДНК, а также ЛСД и транквилизаторы интеркалируют с ДНК.

Интеркаляция приводит к увеличению ДНК; происходит увеличение макромолекулы. Взаимодействие агента вызывает смещение, т. е. приводит к мутации.

Были рассмотрены различные препараты (в основном) имеющие сильное действие на обмен нуклеиновых кислот, а также точки приложения генетических структур.

1. Актиномицин Д, неофлавины и другие вещества молекулы ДНК. Избирательное азотистых оснований и алкилирующие агенты и др. Биомитин, синтетические и двойные единицы.

2. Активность ДНК митины, блеомитин, гомомитин, оливомитин.

3. РНК-полимеразы митинов, оливомитин, дауномицин.

4. На молекулу иридина.

5. С 30 с субъединицей неомицин, тетрациклин.

6. 50 с субъединицей митин, эритромицин.

7. С рибосомальной

### § 3. Процесс участия

Как известно, синтез ДНК осуществляется молекулами ДНК, а также копия их структуры, что



Установлено, что такие препараты, как трипаноцид, бромистый этидий, профлавин, антибиотики дауномицин и ногаломицин, антималярийное средство хлорохин интеркалируют между основаниями двунитчатой спирали ДНК. Реакция носит быстрый и обратимый характер.

Ранее предполагали, что по типу интеркаляции действуют также спермин, стрептомицин, хромомицин и митрамицин, стероидные диаминны (например, иредамин А, обладающий двухфазным действием на структуру ДНК). Однако выяснилось, что данные препараты взаимодействуют с ДНК несколькими иными способами. Галлюциноген ЛСД и транквилизатор хлорпромазин обладают очень слабым интеркалирующим действием.

Интеркаляция приводит к изменению гидродинамических свойств ДНК; происходит увеличение шага спирали и локальная денатурация макромолекулы. Вставка между основаниями какого-либо агента вызывает смещение чтения генетического кода при трансляции, т. е. приводит к мутациям сдвига чтения (frame-shift-мутации).

Были рассмотрены некоторые механизмы действия лекарственных препаратов (в основном на примере антибиотиков), оказывающих сильное действие на генетические структуры и влияющие на обмен нуклеиновых кислот и белка. В заключение необходимо указать точки приложения некоторых лекарственных препаратов на генетические структуры клетки.

1. Актиномицин Д, ногаламицин, даунамицин, бромистый этидий, профлавин и другие вызывают интеркаляцию и изменяют вязкость молекул ДНК. Избирательное изменение термостабильности пар азотистых оснований индуцируют у ДНК актиномицин Д, митомицин, алкилирующие агенты, изониазид и его производные, флеомицин и др. Биомицин, сибиромидин, стрептонигрин и другие образуют единичные и двойные разрывы в цепи ДНК.

2. Активность ДНК-полимеразы изменяют хромомицин А<sub>3</sub>, митомицины, блеомицин, гризеофульвин, новобиоцин и др.

3. РНК-полимеразная активность меняется в присутствии рифамицинов, оливомицинов, митрамицинов, дауномицина и т. д.

4. На молекулу и-РНК оказывается непосредственное действие дауномицина.

5. С 30s субъединицей рибосомы взаимодействуют канамицин, неомицин, тетрациклин, стрептомицин, линкомицин.

6. 50s субъединицу рибосомы изменяют хлорамфеникол, пуромицин, эритромицин.

7. С рибосомальной РНК взаимодействует казугамицин.

### § 3. Процесс репликации в клетке и ферменты, участвующие в его реализации

Как известно, синтез ДНК осуществляется по матричному механизму, т. е. имеющиеся молекулы ДНК в ядре являются матрицами, на которых производится копия их структуры, что приводит к строгому удвоению количества ДНК



в клетке и идентичности вновь синтезированной ДНК по отношению к ранее существовавшей.

В настоящее время принято считать, что репликация происходит по полуконсервативному механизму. Это означает, что две цепи молекулы ДНК должны отделяться друг от друга на том участке, где ■ данный момент действует фермент. Затем на каждый из этих цепей с помощью этого же фермента строится новая цепь ДНК.

На расплетенной цепи ДНК вначале синтезируются короткие молекулы (фрагменты) путем репликации и роста цепи в направлении от 5'- к 3'-концу с константой седиментации 8—10s, которые впоследствии соединяются в единую цепочку ковалентными связями особым ферментом ДНК-лигазой.

Оказалось, что у *E. coli* только одна из двух цепей ДНК синтезируется фрагментами, требующими для своего соединения нуклеотидлигазной активности, синтез другой идет непрерывно.

Ведущим ферментом, осуществляющим репликацию, является ДНК-полимераза. К основным функциям этого фермента относятся: полимеризация, пирофосфоролиз, обмен пирофосфата, 3'—5'-экзонуклеазное расщепление и 5'—3'-экзонуклеазное расщепление (последнее только у ДНК-полимеразы I). Однако биологическая роль различных типов полимераз еще окончательно не выяснена. Тем не менее полагают, что низкомолекулярные ДНК-полимеразы играют существенную роль в процессах репарации молекул ДНК. Тот факт, что существует корреляция между увеличением содержания высокомолекулярных ДНК-полимераз и ростом клеточной пролиферации, говорит ■ пользу предположения об участии высокомолекулярных ДНК-полимераз в репликации.

Сейчас получены очень чистые препараты фермента ДНК-полимеразы из различных источников: бактерий, животных клеток и, в частности, из тимуса теленка и печени крыс.

Однозначных данных о составе и строении ДНК-полимераз, обнаруживаемых в цитоплазме, также нет. По-видимому, ДНК-полимеразы находятся в цитозоле в многочисленных молекулярных формах. Так, обнаружено, что высокомолекулярные ДНК полимеразы из различных источников представляют ферменты, состоящие из компонентов массой 50 000—55 000.

Среди факторов, влияющих на регуляцию процесса репликации в клетке, важную роль, по-видимому, играют факторы белковой природы, способные изменять как свойства самих полимеризующих ферментов, так и свойства матричных ДНК.

Расплетающие белки принимают участие в репликативном процессе и влияют на свойства матрицы. Эти белки были получены из лизатов *E. coli*, зараженных фагом T4, а также из незараженных клеток *E. coli* и животных клеток. Они обладают способностью переводить двойную спираль ДНК в однонитчатое состояние при температуре более низкой, чем  $T_{пл}$  ДНК, что обусловлено их выраженным сродством ■ однонитевой ДНК и слабым к двухцепочечной ДНК. Только в таком однонитевом виде, как уже говорилось, ДНК и может выполнять свою матричную функцию.

Из клеток *E. coli* выделен белок, имеющий молекулярную массу около  $10^5$  и вызывающий уменьшение числа суперспиральных участков ■ ДНК. Аналогичные белки были обнаружены и в ядрах клеток млекопитающих.

По-видимому, белковые факторы различной молекулярной массы играют важную роль ■ этапах подготовки молекул ДНК ■ репликации и процессах взаимодействия молекул ферментов с ДНК.

Фермент ДНК-зависимая ДНК-полимераза начинает свою работу при наличии следующих компонентов: нуклеотид фосфатов всех четырех видов, матрицы — молекулы ДНК, молекулы инициатора, ■ качестве которого ■ клетке обычно выступают молекулы РНК, и при наличии в среде некоторых видов ионов.

В качестве матрицы ■ ДНК-полимеразной реакции может выступать только однонитчатая ДНК или расплетенная молекула двунитчатой ДНК.

РНК-инициаторы имеют, как правило, длину порядка 50 нуклеотидов и обладают свободной 3-ОН-группой. Было показано, что фрагменты длиной ■ 25—30 нуклеотидов, обогащенные гуанином и аденином, эффективные инициаторы для ДНК-полимеразы на матрицах ДНК независимо от источника получения матричной ДНК.

Многие антибиотики в т  
РНК и ДНК. Тем не ме  
группа соединений, о  
из синтез ДНК по сравне  
Изменение репликации  
в основном по двум мех  
Изменение свойств ферм  
К антибиотикам, относ  
тез ДНК, относятся, в час  
рубифлавин, флеомицин,  
востатин и др.

Как правило, все соедин  
оказывают влияние на си  
и ингибирование синтеза  
к антибиотикам дистами

Среди соединений, в  
шинство соединений, дей  
за счет изменения свойств  
зидно-химических свойств

периментах *in vitro*, так  
Так было обнаружено  
значительное повышение  
выраженной стабилиза

вании полагают, что си  
на активность ДНК-по  
плекса антибиотик —  
мой-ДНК-полимеразной

Антибиотик дистам  
в ДНК-полимеразной  
ваться с ДНК.

В то же время, исс  
дия и дистамицина  
с матрицами различно  
Muller et al. (1974) об

зывание ДНК-полиме  
ДНК. На этом основа  
ные препараты, по-вид  
ки, с которыми может

Флеомицин — анти  
синтез ДНК и не тормо  
Hela. При этом тормо  
но изменением актив  
можение активности  
Ведущая роль в меха  
действию антибиотик  
ющие факты: во-первы



#### § 4. Лекарственные вещества, влияющие на процесс репликации в клетке

Многие антибиотики в той или иной степени влияют на биосинтез РНК и ДНК. Тем не менее среди них имеется достаточно большая группа соединений, оказывающих преимущественное влияние на синтез ДНК по сравнению с синтезом РНК и белка в клетке.

Изменение репликации под влиянием антибиотиков происходит в основном по двум механизмам: 1) изменение свойств матрицы; 2) изменение свойств фермента.

К антибиотикам, относительно избирательно влияющим на синтез ДНК, относятся, в частности, такие соединения, как гедрамицин, рубифлавин, флеомицин, митомицин, блеомицин, эдеин, неокарцинон и др.

Как правило, все соединения, изменяющие свойства матрицы, оказывают влияние на синтез ДНК, при этом обычно наблюдается ингибирование синтеза РНК и белка. Это, в частности, относится к антибиотикам дистамицину, нетропсину и др.

Среди соединений, влияющих на синтез ДНК в клетках, большинство соединений, действуют на ДНК-полимеразную активность за счет изменения свойств матрицы. Было показано изменение физико-химических свойств ДНК под влиянием препаратов как в экспериментах *in vitro*, так и *in vivo*.

Так было обнаружено, что антибиотик плюрамицин А вызывает значительное повышение  $T_{пл}$  молекул ДНК, свидетельствующее о выраженной стабилизации их вторичной структуры. На этом основании полагают, что сильное ингибирующее действие плюрамицина на активность ДНК-полимеразы *E. coli* связано с образованием комплекса антибиотик — ДНК, что приводит к блокаде ДНК-зависимой-ДНК-полимеразной реакции.

Антибиотик дистамицин А тормозит матричную активность ДНК-полимеразной реакции за счет способности прочно связываться с ДНК.

В то же время, исследуя действие дауномицина, бромистого этидия и дистамицина А на связывание ДНК полимеразы I *E. coli* с матрицами различного типа — нативной и денатурированной ДНК, Muller et al. (1974) обнаружили, что эти соединения подавляют связывание ДНК-полимеразы лишь с однонитчатой, но не двунитчатой ДНК. На этом основании было высказано предположение, что данные препараты, по-видимому, блокируют в молекуле ДНК те участки, с которыми может связаться ДНК-полимераза.

Флеомицин — антибиотик и противоопухолевый агент тормозит синтез ДНК и не тормозит синтез РНК и белка в клетках *E. coli* и *HeLa*. При этом торможение синтеза ДНК, по-видимому, обусловлено изменением активности фермента ДНК-полимеразы; такое торможение активности ДНК-полимеразы было обнаружено *in vitro*. Ведущая роль в механизме ингибирования принадлежит взаимодействию антибиотика с ДНК-матрицей. На это указывают следующие факты: во-первых, в условиях, используемых для определения



активности ДНК-полимеразы, флеомицин изменяет характеристики кривой плавления ДНК (происходит сдвиг  $T_{пл}$  в сторону более высоких значений); во-вторых, степень торможения ДНК-полимеразы строго зависит от концентрации матрицы и содержания в ней АТ пар и не зависит от концентрации фермента.

Различие в торможении активности ДНК-полимераз и РНК-полимераз разными концентрациями антибиотика, хотя в обоих случаях оно обусловлено связыванием флеомицина с матрицей, можно объяснить тем, что ДНК-полимераза работает последовательно передвигаясь от 3-гидроксильного конца матричной цепочки, а при достижении места флеомицина происходит блокирование ее работы в данном участке матрицы.

В отличие от ДНК-полимеразы РНК-полимераза может действовать на отдельных участках вдоль матрицы и может перепрыгивать область прикрепления флеомицина; при высоких же концентрациях флеомицина областей прикрепления флеомицина становится очень много, что и приводит к ингибированию также и РНК-полимеразной активности.

Неокарцинонстатин, как и флеомицин, избирательно тормозит синтез ДНК без сопутствующего торможения синтеза РНК и белка. Так как неокарцинонстатин снижает  $T_{пл}$  ДНК, то считают, что его ингибирующее действие обусловлено изменением физико-химических свойств матрицы.

Рассмотрим теперь препараты, которые, как предполагают, влияют на активность ДНК-полимераз по механизму, не связанному с ингибированием матрицы.

Циклогексимид — препарат, оказывающий ингибирующее влияние на синтез ДНК. Так как введение циклогексимиды вызывает торможение синтеза белка в клетках, считается, что его ингибирующее действие на синтез ДНК связано с торможением образования новых молекул ДНК-полимераз.

Антибиотик эдеин также вызывает избирательное ингибирование синтеза ДНК. При этом в условиях торможения синтеза ДНК синтез РНК и белка остается неизменным. При исследовании влияния препарата на ДНК оказалось, что эдеин не связывается с ДНК и не вызывает разрывов в молекуле ДНК. Также существует большая вероятность, что ингибирующее влияние антибиотика на ферментные системы бактерий, синтезирующие ДНК, связано с непосредственным влиянием на ДНК-полимеразу.

Саркомицин относится к соединениям, вызывающим блокаду синтеза за счет тормозящего действия на активность ферментов синтеза ДНК, обусловленную его алкилирующим влиянием на тиоловые группы ферментов.

Одним из наиболее интересных веществ в отношении ингибирующего действия на синтез ДНК является антибиотик блеомицин, в низких концентрациях тормозящий рост бактериальных и животных клеток.

Блеомицин тормозит синтез ДНК в растущих клетках *E. coli*, карциномы Ерлиха, клетках *Hela*. Однако оказалось, что торможе-

синтеза ДНК в клетках  
торможением актив  
антибиотика. Более того, н  
активности ДНК-полимеразы  
на ДНК-полимеразную  
матрицу как на м  
матрицы, так как показано, чт  
соединений вызывает  
in vivo. Отмечае  
макромолекул под вл  
Сейчас интенсивно из  
образующий сшивки ме  
процесса репликации, —  
тормозит активность ДН  
ряд других антибиотиков  
активность ДНК-лигазы  
ях он вызывает разрывы  
газы, при низких концен  
ловлено либо связывани  
ментом.

Такое влияние блеоми  
ет объяснить его тормо  
клетках при отсутствии  
ющие ДНК-полимеразы

Приведенные данные  
в животных и бактериаль  
исследованных соединений  
в клетках различных типо  
Большинство из расс  
за счет изменения свойств  
или первичной структуры  
вещества действуют на а  
средственно на сам ферм  
Для некоторых анти  
торможении синтеза ДН  
Это свидетельствует о  
фармакологических пр  
менении активности  
РНК-полимеразе, но  
цессах биосинтеза нук  
Необходимо также  
нуклеиновых кислот н  
вания синтеза нуклеот  
реакций взаимопревращ  
Не исключены и дру  
синтез нуклеиновых кисл  
проницаемости, концент  
которых позволяет при  
акции антибиотиков в кле



ние синтеза ДНК в клетках под влиянием блеомицина не сопровождается торможением активности ДНК-полимеразы под влиянием антибиотика. Более того, наблюдалась интенсивная стимуляция активности ДНК-полимеразы сразу же вслед за добавлением блеомицина в реакционную смесь. По-видимому, такое влияние блеомицина на ДНК-полимеразную активность связано с его деградирующим действием как на матрицу ДНК, так и на ДНК-продукт реакции, так как показано, что блеомицин в присутствии сульфгидрильных соединений вызывает образование разрывов в нитях ДНК *in vitro* и *in vivo*. Отмечается также снижение температуры плавления макромолекул под влиянием блеомицина.

Сейчас интенсивно изучается влияние блеомицина на фермент, образующий сшивки между полинуклеотидными нитями в ходе процесса репликации, — ДНК-лигазу. Обнаружено, что блеомицин тормозит активность ДНК-лигазы в меньших концентрациях, чем ряд других антибиотиков. При этом блеомицин может ингибировать активность ДНК-лигазы двояким путем: при высоких концентрациях он вызывает разрывы в нитях ДНК, неспецифичные для ДНК-лигазы; при низких концентрациях ингибирование может быть обусловлено либо связыванием антибиотика с ДНК, либо с самим ферментом.

Такое влияние блеомицина на активность ДНК-лигазы позволяет объяснить его тормозящий эффект на синтез ДНК в различных клетках при отсутствии его ингибирующего действия на соответствующие ДНК-полимеразы.

Приведенные данные о влиянии ряда антибиотиков на процесс репликации в животных и бактериальных клетках свидетельствуют о низкой специфичности исследованных соединений в отношении влияния на синтез нуклеиновых кислот в клетках различных типов.

Большинство из рассмотренных соединений влияют на процесс репликации за счет изменения свойств матрицы в связи с изменением ее вторичной структуры или первичной структуры при образовании разрывов в матрице. Лишь немногие вещества действуют на активность ДНК-полимеразы в результате влияния непосредственно на сам фермент.

Для некоторых антибиотиков, например для блеомицина, ведущее значение в торможении синтеза ДНК придается ингибированию ДНК-лигазной активности. Это свидетельствует о необходимости при изучении тонких механизмов влияния фармакологических препаратов на синтез ДНК или РНК уделять внимание изменению активности не только основных ферментов биосинтеза — ДНК- или РНК-полимеразе, но и ферментам, имеющим вспомогательное значение в процессах биосинтеза нуклеиновых кислот.

Необходимо также помнить, что ряд антибиотиков могут подавлять синтез нуклеиновых кислот на уровне метаболизма нуклеотидов либо за счет блокирования синтеза нуклеотидов *de novo*, либо нарушения тонкой сбалансированности реакций взаимопревращения нуклеотидов.

Не исключены и другие косвенные механизмы влияния антибиотиков на синтез нуклеиновых кислот в животных и бактериальных клетках (изменение проницаемости, концентрации и качественного состава ионов, pH и др.), изучение которых позволит приблизиться к пониманию первичной фармакологической реакции антибиотиков в клетке.



## ГЛАВА 2

### РИБОНУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ВЕЩЕСТВА

#### § 1. Строение РНК. Процесс транскрипции в клетке

Одна из важнейших функций ДНК — обеспечение структурной информации для синтеза рибонуклеиновой кислоты (РНК) — транскрипция. Рентгеноструктурный анализ РНК показал, что ее молекула имеет еще более сложное строение, чем ДНК. Число пуриновых оснований не совпадает здесь с числом пиримидиновых оснований; цепи РНК могут быть разветвленными. Дифракционные картины указывают в ряде случаев на образование односторонних спиралей.

В состав РНК всех типов входят рибоза, фосфорная кислота и четыре азотистых основания. Составные части РНК связаны друг с другом примерно так же, как и у ДНК. РНК представляет собой длинный полимер с углеводно-фосфатным остовом. Фосфатный мостик соединяет пятый углеродный атом одной рибозы с третьим углеродным атомом другой.

РНК классифицируется биологами в соответствии с теми функциями, которые она выполняет. РНК состоит из: 1) р-РНК-рибосомальной, которая находится в рибосомах и составляет примерно 80% от всей РНК; 2) т-РНК-растворимой (транспортная, переносчик или адапторная), составляющей 15% от общей РНК, и 3) и-РНК-информационной (посредник, трансляционная, комплементарная, матричная РНК), составляющей 5% от общей РНК клетки.

РНК в растворе находится в спиральной форме, но она выражена не так отчетливо, как у ДНК, и спиральные участки молекул перемежаются с беспорядочными аморфными участками. Те участки одной нити РНК, где находятся комплементарные основания, могут спариваться за счет замыкания водородных связей. Так как вдоль молекулы может быть много комплементарных зон, естественно, что и число различных структур, принимаемых одной и той же нитью РНК, оказывается достаточно большим. Таким своеобразным строением РНК и объясняется исключительная лабильность ее структуры, реагирующей на малейшие изменения в физико-химических характеристиках растворителя.

Молекулы различных типов РНК в клетке синтезируются в ходе реализации одной из важнейших функций ДНК — обеспечения структурной информации для синтеза белка.

Если синтез ДНК — уникальное событие в жизни клетки, то синтез РНК в животных и бактериальных клетках идет непрерывно в течение всей жизни клеток, лишь временно прекращаясь во время митоза. В процессе транскрипции информация, закодированная в ДНК в виде последовательности оснований, переносится на молекулы РНК.

Механизм транскрипции можно во многом сравнить с процессом репликации. Он также требует наличия полимеразы и запаса нуклеозидтрифосфатов. Но в данном случае РНК копируется не целиком, как при репликации, а выборочно.

Синтез всех типов РНК (матричной, рибосомальной и транспортной) осуществляется в живой клетке ферментом РНК-полимеразой (нуклеозидфосфат: РНК — нуклеотидилтрансфераза КФ 2.7.76).

Для работы ДНК-зависимой РНК-полимеразы *in vitro* необходимо одновременное присутствие четырех рибонуклеозидтрифосфатов: АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ; ионов  $Mg^{2+}$  или  $Mn^{2+}$  и нативной двухцепочечной ДНК, хотя может использоваться и одноцепочечная ДНК.

Механизм РНК-полимеразной реакции заключается в том, что вначале образуется комплекс РНК-полимераза — ДНК. Фермент расплетает большой участок двойной спирали, после чего возникают водородные связи между основаниями ДНК и комплементарными рибонуклеозидтрифосфатами. По мере продвижения фермента вдоль матрицы растущая цепь РНК отходит от ДНК и восстанавливается двухспиральная структура последней. Синтез РНК происходит, вероятно, на одной из цепей ДНК-матрицы, вследствие чего вновь синтезированная РНК



по последовательности нуклеотидов комплементарна одной из цепей ДНК ■ идентична другой (с заменой тимина на урацил).

В процессе транскрипции выделяют четыре стадии (И. П. Ашмарин и др., 1975): 1) присоединение фермента РНК-полимеразы к ДНК-матрице; 2) инициация — связывание первого и второго нуклеозидтрифосфатов с ферментом и замыкание первого фосфодиэстерного мостика; 3) элонгация — многократное повторение реакций присоединения к ферменту новых нуклеозидтрифосфатов, комплементарных очередному нуклеотиду ДНК матрицы, образование новой фосфодиэстерной связи с 3-ОН-группой наращиваемого полинуклеотида; 4) терминация — прекращение элонгации и отделение готовой РНК от матрицы.

Основной фермент процесса транскрипции — РНК-полимераза выделен из объектов самой различной природы: животных клеток, водорослей и бактерий, высших растений. Наиболее подробно изучена РНК-полимераза бактерии, где она обнаруживается преимущественно в так называемой фракции ядерных тел, содержащих основную массу клеточной ДНК.

Молекулы РНК-полимеразы *E. coli* состоят из нескольких субъединиц: двух субъединиц  $\alpha$  (молекулярная масса каждой 39 000) и по одной —  $\beta$  (155 000),  $\beta'$  (165 000),  $\omega$  (9 000) и  $\sigma$  (95 000). Особо важную роль играет субъединица  $\sigma$ , которая необходима для инициации синтеза РНК; ее присутствие во много раз ускоряет синтез РНК.

В животных клетках РНК-полимераза локализована ■ основном в ядрах и связана прочными связями с хроматином. В отличие от РНК-полимеразы прокариотов РНК-полимераза эукариотов прочно связана ■ комплексе с ДНК, гистонами, кислыми белками и РНК. Из-за этого обстоятельства длительное время исследование синтеза РНК проводилось с использованием или целых ядер так называемого *aggregate enzyme*, полученного как грубый нерастворимый препарат из ядер при осаждении KCl.

Всего путем хроматографии на колонках получено шесть форм РНК-полимеразы, содержащихся ■ ядрах печени. Три из них IA, IB, IV — ядрышковые а IIA, IIB, III — находятся ■ ядерном соке (нуклеоплазме).

Оптимальные условия для активности ядрышковых ферментов создаются при низкой ионной силе. Оптимальные условия для проявления активности нуклеоплазматических ферментов — высокая концентрация  $Mn^{2+}$  и высокая ионная сила. Ионы  $Mg^{2+}$  ■  $Mn^{2+}$  — одинаково эффективны для проявления активности ядрышковых и нуклеоплазматических ферментов.

Как форма А, так и форма В фермента РНК-полимеразы катализирует синтез РНК с ДНК различного происхождения в качестве матрицы (тимуса телят, печени крысы и др.). При этом ядрышковые полимеры более эффективно используют в качестве матрицы нативную ДНК, а нуклеоплазматические — денатурированную ДНК.

## § 2. Лекарственные вещества, влияющие на процесс транскрипции в клетке

К данной группе веществ прежде всего относятся антибиотики, многие из которых обладают определенным избирательным эффектом ■ отношении преимущественного подавления синтеза РНК по сравнению с синтезом ДНК.

Ингибирование процесса синтеза РНК происходит по двум основным механизмам: либо за счет взаимодействия с матрицей, либо с ферментом. Взаимодействие с матрицей может быть обусловлено ковалентными и нековалентными силами. По типу ингибирования за счет изменения свойств матрицы влияют на синтез РНК следующие антибиотики: актиномицин Д, дауномицин, ногаламицин, антрамицин, дистамицин, флеомицин, блеомицин и др.

Актиномицин Д — наиболее специфичный среди ингибиторов синтеза РНК. Антибиотик ■ первую очередь подавляет стадию элон-



гации процесса транскрипции, незначительно влияя на стадии инициации или терминации цепи. Доказано, что избирательное ингибирование ДНК-зависимого синтеза РНК актиномицином Д обусловлено его связыванием с ДНК (интеркаляцией между парами Г—Ц) и избирательным нарушением способности ДНК служить матрицей для синтеза РНК, в результате чего и происходит подавление активности РНК-полимеразы из-за возникновения более или менее длительно живущих блоков на пути движения фермента вдоль ДНК-матрицы. Его избирательность проявляется уже на этапе взаимодействия с матрицей; хорошо связываясь с двунитчатой ДНК, он не связывается с одноцепочечной и двухцепочечной РНК, а также с комплексом РНК — ДНК.

Большая группа соединений действует на процесс транскрипции, изменяя свойства ДНК-матрицы за счет интеркалирующего механизма. Среди них ногаламицин, дауномицин, хлорокин и др. Как ногаламицин, так и дауномицин изменяют  $T_{пл}$ , характеристическую вязкость и другие физико-химические параметры макромолекул. Показано, что ногаламицин блокирует РНК-полимеразную реакцию, влияя на процесс элонгации цепи и в меньшей степени на процесс инициации. Наблюдается большое сходство в характере преимущественного ингибирования элонгации по сравнению с ингибированием инициации между актиномицином Д и ногаламицином, хотя, как известно, актиномицин Д специфически связывается с Г—Ц парами нативной ДНК, а ногаламицин с А—Т парами ДНК.

Гедрамицин — антибиотик из *Streptomyces griseoruber*, влияет на физико-химические свойства ДНК (депрессия и сдвиг в сторону длинноволновой части спектрального максимума  $\lambda=430$  нм; увеличение  $T_{пл}$  и т. д.).

Анализ механизма ингибирования гедрамицином показал, что торможение синтеза РНК антибиотиком мало зависит от концентрации РНК-полимеразы, что подтверждает предположение о его первичном действии на ДНК, а не на РНК-полимеразу. При этом гедрамицин блокирует полимеризацию РНК после ее инициации.

Другой антибиотик антрамицин ингибирует биосинтез РНК и ДНК в клетках на 90% в концентрации, которая не влияет на синтез белка. При этом в первую очередь антрамицин тормозит ДНК-зависимую РНК-полимеразную реакцию и в меньшей степени ДНК-зависимую ДНК-полимеризацию.

Для ряда антибиотиков отмечается хорошая корреляция между величиной изменения активности РНК-полимеразы, структурой соединений, а также свойствами матрицы.

Дистамицин А тормозит матричную активность ДНК как и в случае ДНК-зависимой ДНК-полимеразы, так и для РНК-полимеразы, по-видимому, за счет связывания с молекулами двунитчатой и одонитчатой ДНК. Было показано, что аналоги дистамицина А, содержащие 4 и 5 пиррольных кольца, более активны, чем исходное соединение в ингибировании ДНК-зависимой РНК-полимеразной реакции.



Ряд соединений могут блокировать активность ДНК-зависимой РНК-полимеразы, вызывая более глубокие изменения в свойствах матрицы, чем описанные выше. Так, антибиотик блеомицин, вызывающий значительное торможение синтеза РНК, по мнению Horwitz (1974), осуществляет это путем деградирующего действия на вирусную ДНК, что приводит к ингибированию синтеза РНК вирусов.

По принципиально иному механизму действуют на процесс транскрипции антибиотики (рифампицин, стрептоварицин, стрептолидин и ряд других), которые изменяют активность ДНК-зависимой РНК-полимеразы за счет непосредственной связи с ферментом.

Из них наибольший интерес представляют два вещества: рифампицин и  $\alpha$ -аманитин. Оба они высокоспецифичны в отношении ингибирования РНК-полимеразы, но если рифампицин подавляет РНК-полимеразу бактерий, не влияя на РНК-полимеразу животных клеток, то  $\alpha$ -аманитин, наоборот, ингибирует ДНК-зависимую РНК-полимеразу животных клеток и не действует на бактериальную. Объединяет их общность механизма ингибирования РНК-полимеразной реакции — изменение активности за счет связывания не с матрицей, а с ферментом.

Анализ взаимодействия антибиотика с ферментом показал, что в образовании этого комплекса скорее всего не принимают участия ковалентные связи и что основную роль в связывании между ними играет макроциклическое кольцо молекулы рифампицина, другие же участки молекулы определяют проникновение молекулы антибиотика в бактериальные клетки.

Аналогичен рифампицину по механизму действия антибиотик стрептоварицин, представляющий собой комплекс, состоящий из нескольких компонентов (А, В, С, D и др.). Как и рифампицин, он подавляет РНК-полимеразную реакцию, специфически нарушая процесс инициации.

Также ингибирует процесс транскрипции и активность РНК-полимеразной реакции у бактерий антибиотик стрептолидин, хотя его связывание с ферментом и менее прочно, чем в случае рифампицина и стрептоварицина. В отличие от рифампицина и стрептоварицина он ингибирует не только процесс инициации, но и стадию элонгации цепи РНК в ходе процесса транскрипции. Ингибирование активности фермента не связано с конкуренцией между стрептолидином и нуклеозидтрифосфатами за активные участки фермента. Детальный анализ показал, что стрептолидин подобно рифампицину изменяет активность фермента, влияя на  $\beta$ -субъединицу РНК-полимеразы.

Другой антибиотик, специфически связывающийся с РНК-полимеразой, —  $\alpha$ -аманитин. Stiple et al. в 1967 г. наблюдали, что  $\alpha$ -аманитин — токсин, образуемый шляпочным грибом *Amanita phalloides*, специфически тормозит синтез РНК в ядрах печени мышей при высокой ионной силе в присутствии  $Mn(II)$  и сульфата аммония.



$\alpha$ -Аманитин вызывает специфическое торможение РНК-полимеразы В (нуклеоплазматического фермента), обусловленное, по-видимому, прямым влиянием на фермент. Установлено, что с одной молекулой РНК-полимеразы В связывается одна молекула  $\alpha$ -аманитина (Chainbon, 1970).

Исследование действия аманитина на процесс транскрипции показало, что препарат подавляет рост цепи синтезируемой РНК, т. е. ингибирует стадию элонгации процесса транскрипции.

Определенный интерес представляет еще один возможный механизм активации РНК-полимеразы, а именно изменение активности фермента за счет увеличения или снижения скорости синтеза РНК-полимеразы. В частности, так влияет на активность фермента, по-видимому, циклогексимид.

Таким образом, многие соединения, действующие на биосинтез РНК в клетке, реализуют свой эффект через изменение активности ДНК-зависимой РНК-полимеразы, обладают малой избирательностью в отношении подавления синтеза РНК-полимераз ядер животных и бактериальных клеток.

Другая группа препаратов действует на процесс транскрипции более избирательно, изменяя свойства фермента ДНК-зависимой РНК-полимеразы в процессе взаимодействия с ним. При этом наблюдается, как правило, высокая специфичность в отношении ДНК-зависимых РНК-полимераз бактериальных и животных клеток (рифампицин, стрептоварицин,  $\alpha$ -аманитин), а также внутри различных типов РНК-полимераз одного вида клеток ( $\alpha$ -аманитин).

Было установлено, что соединения, влияющие на свойства матрицы, в основном действуют на стадию элонгации процесса транскрипции, а соединения, взаимодействующие непосредственно с ферментом, — на стадию инициации процесса транскрипции.

Еще одним возможным путем регуляции процесса транскрипции может быть изменение синтеза фермента РНК-полимеразы под действием антибиотика на белковый синтез в клетке. Однако, поскольку первичный эффект этих препаратов связан с угнетением белкового синтеза (т. е. обычно процесса трансляции), необходимо учитывать, что в данном случае изменение активности РНК-полимеразы таким путем является вторичным по отношению к первичному влиянию на процесс трансляции.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Ашмарин И. П. Молекулярная биология: Избранные разделы. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1977.  
 Ашмарин И. П., Ключарев Л. А. Ингибиторы синтеза белка. — Л.: Медицина, 1975.  
 Георгиев Г. П. Мол. биол., 1970, т. 4, № 1, с. 17—29.  
 Киселев Л. Л. Молекулярные основы биосинтеза белков. — М.: Наука, 1971.  
 Кузин А. М. Молекулярная радиобиология клеточного ядра. — М.: Атомиздат, 1973.



- Сент-Дьерди А. Биоэлектроника. — М.: Мир, 1971.  
Banks G. R. Sci. Progr. Oxf., 1971, v. 59, p. 475.  
Beebee J. C., Butterworth P. H. W. Eur. J. Biochem. 1975, v. 51, p. 537—545.  
Chambon Y., Gissinger F., Mandel J. L. et al. CSHSQB, 1970, v. 35,  
p. 693.  
Horwitz S. B. Fed. Proc., 1974, v. 33, p. 2281—2287.  
Jarbro J. W. Geriatrics, 1970, v. 25, p. 135.  
Morioka K., Terayama H. Biochim. and Biophys. Res. Commun., 1974, v. 61,  
p. 568—575.  
Meihlac M., Keding C., Chambon P. FEBS Lett., 1970, v. 9, p. 258—260.  
Moses R., Campbell J., Fleischman R. et al. Fed Proc., 1972, v. 31,  
p. 1415—1421.  
Stirpe F., Einme L. Biochem. J., 1967, v. 105, p. 779—782.  
Wehrli W., Staehelin M. Biochim. et biophys. acta, 1969, v. 182, p. 24—29.  
Werner E. G., Müller H., Yamazaki Z. et al. Biochem. Biophys. Res. Commun.,  
1972, v. 46, p. 1667.  
Widnell C. C., Tata J. R. Biochim. et Biophys. acta, 1966, v. 123, p. 478—492.



# РОЛЬ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ЭФФЕКТАХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Иммунофармакология решает целый ряд проблем, актуальных для биологии и медицины:

2. Изучение механизмов аллергий, вызываемых химическими веществами, в том числе и лекарствами.

4. Изучение механизмов иммунологических реакций при помощи фармакологических веществ, применяемых в качестве анализаторов функции.

304

Иммунология возникла и развивалась как самостоятельная биологическая наука. Иммунологические исследования животных к инфекционным заболеваниям в начале нашего века основаны на работах Карла Ландштейна, который открыл группу крови. В настоящее время иммунология является одной из самых плодотворных областей биологии. В последние десятилетия в иммунологии достигнуты значительные успехи. В настоящее время иммунология является одной из самых плодотворных областей биологии. В последние десятилетия в иммунологии достигнуты значительные успехи.

Однако только в 50—60-е гг. она стала предметом многочис-

активных молекул — осн

Иммунитет обес...

...лимфоцитарного комп.  
ботку антигена (чужерод.  
дукцию антиг.

По современным

и др.), на которые дублируется

летки могут рас-

...клетку в цел...

...зывать детер...

Активировать

... всю низкомолекулярную химию  
... центр

антите



## ГЛАВА 1

### ИММУНИТЕТ КАК ФУНКЦИЯ СИСТЕМЫ, ИНАКТИВИРУЮЩЕЙ ЧУЖЕРОДНЫЕ ХИМИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ (КСЕНОБИОТИКИ). СРАВНИТЕЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ НЕКОТОРЫХ ДЕТОКСИРУЮЩИХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА

#### § 1. Иммунологическая защита организма от чужеродных веществ

Иммунология возникла и многие годы развивалась как сугубо медицинская наука. Иммунитет рассматривали обычно как устойчивость животных к инфекционным агентам, несмотря на классические исследования Карла Ландштейнера, заложившего еще в начале нашего века основу неинфекционной иммунологии и доказавшего гораздо более широкий биологический смысл иммунитета. В результате серии работ с синтетическими антигенами, проведенных Ландштейнером, была установлена возможность получения антител, специфических по отношению к определенным, входящим в состав антигена, химическим группировкам, и способность этих антител реагировать с данной химической группировкой.

Однако только в 50—60-е годы неинфекционная иммунология стала предметом многочисленных исследований и появились дополнительные факты, окончательно убедившие всех, что «инфекционный иммунитет — лишь частный вопрос неизмеримо более широкой и глубокой темы» (Ф. Бернет, 1964). Иммунитет стали рассматривать как «способ защиты организма от живых тел и веществ, несущих на себе признаки генетически чужеродной информации» (Р. В. Петров и Ю. М. Зарецкая, 1970). Сейчас же накапливаются данные, позволяющие считать, что «нейтрализация биологически активных молекул — основной принцип иммунологии» (Greiner Nieschlag, 1975).

Иммунитет обеспечивается в основном клетками макрофагально-лимфоцитарного комплекса, осуществляющего захват, переработку антигена (чужеродного макромолекулярного агента) и продукцию антител (иммуноглобулинов), связывающих антиген в крови и тканях и способствующих его нейтрализации.


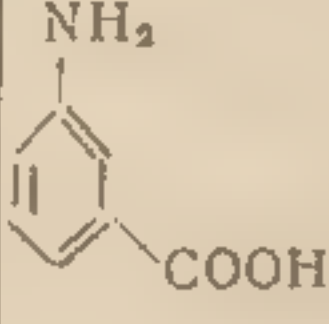

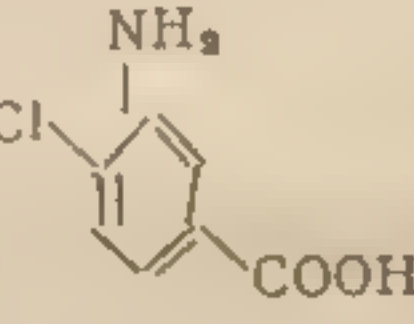
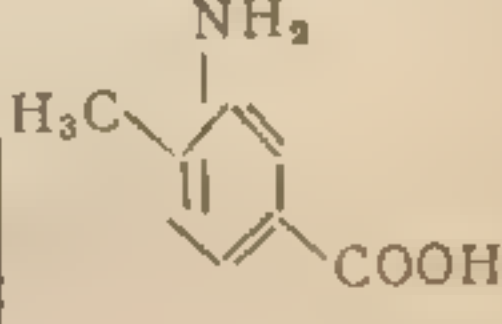
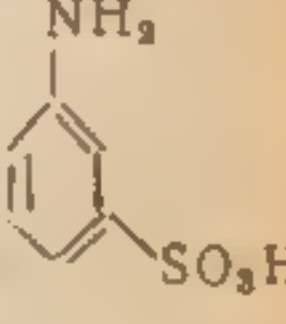
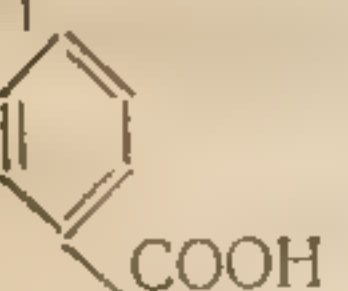
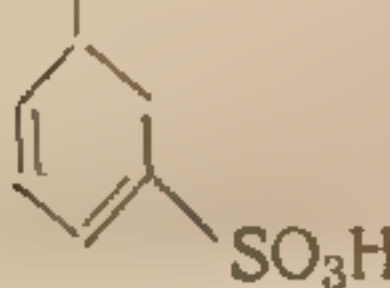
По современным представлениям антиген представляет собой единый макромолекулярный субстрат (макромолекула, клетка и др.), на который при его парентеральном введении в организм индуцируется иммунная реакция. Антитела и иммунокомпетентные клетки могут распознавать не всю чужеродную макромолекулу, а тем более клетку в целом, а ее отдельные низкомолекулярные детерминаты. Поэтому иммунизация каким-либо антигеном вызывает, как правило, продукцию антител, соответствующих различным антигенным детерминантам. Активный центр антител, способный связывать какую-либо химическую структуру, весьма невелик, соответствует лишь низкомолекулярному соединению и не может охватывать всю молекулу белка или другого антигенного полимера. Активный центр антитела имеет объем примерно  $34 \times 12 \times 7 \text{ \AA}$



(Е. Кэбот и М. Мейер, 1968). Как показал К. Ландштейнер (1936, 1946), низкомолекулярные органические соединения, ковалентно присоединенные (конъюгированные) к макромолекулярному носителю, при парентеральном введении индуцируют синтез антител, связывающих эти низкомолекулярные соединения (табл. 24).

В табл. 25 приведены вещества, использованные для определения специфичности антител к конъюгату фенобарбитал — белок (И. Е. Ковалев и др., 1975).

Таблица 24

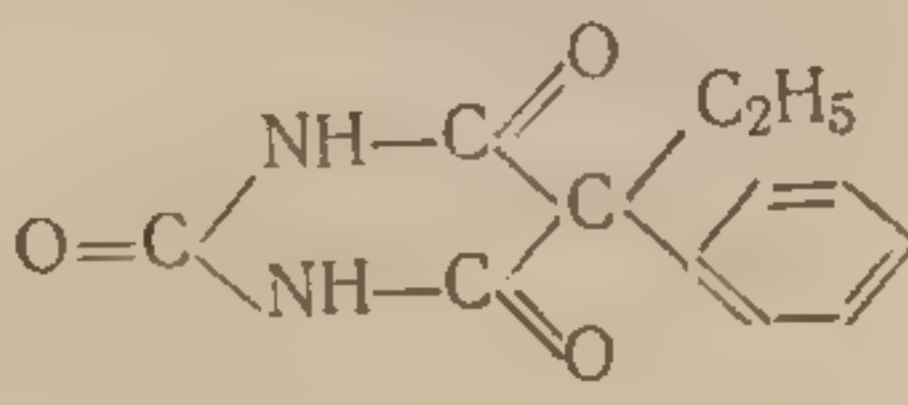
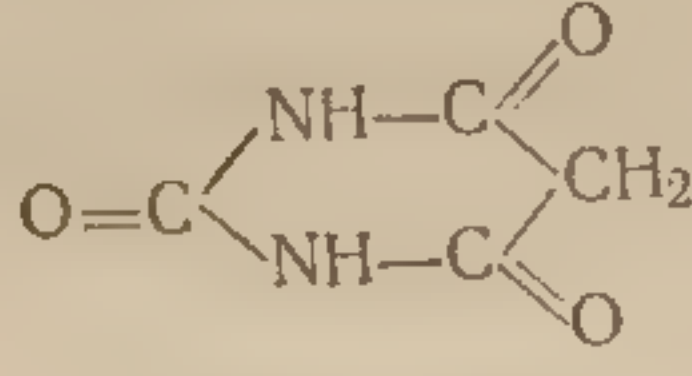
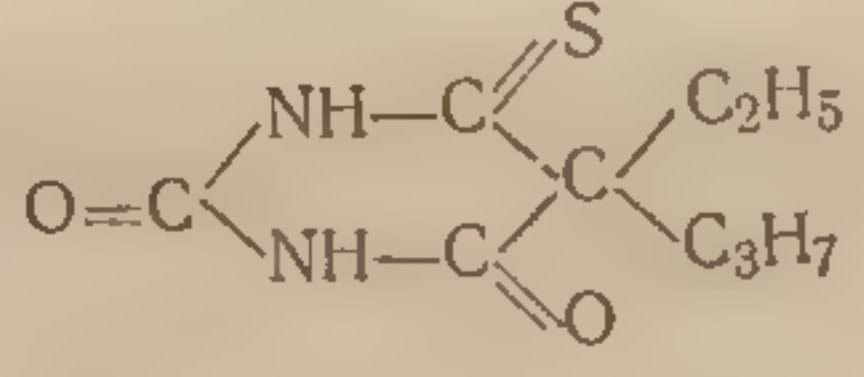
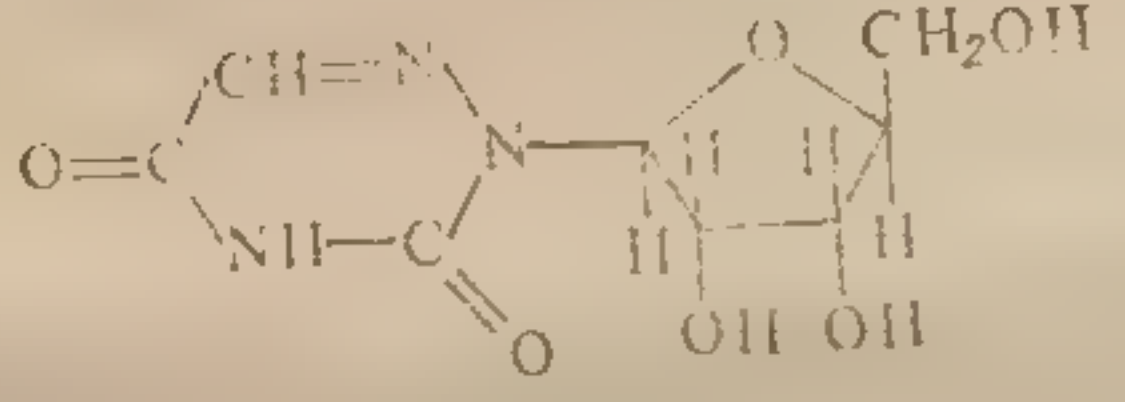
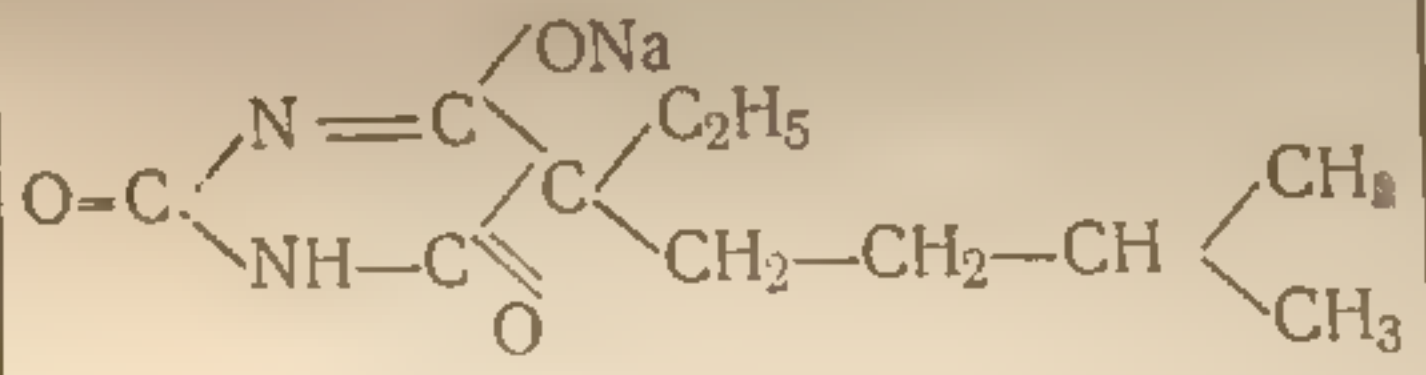
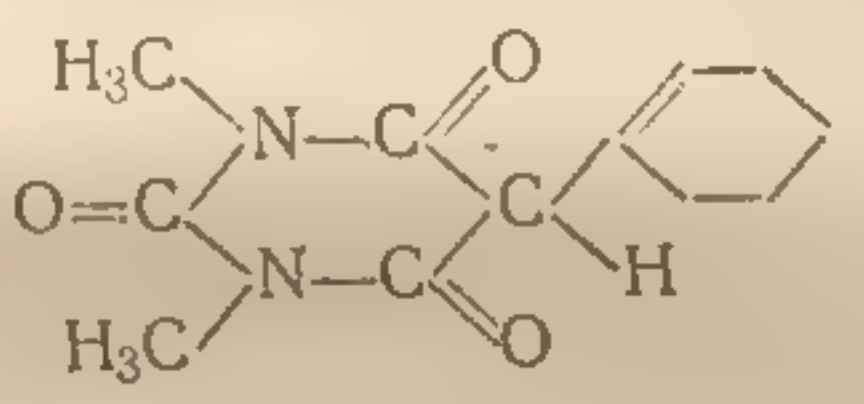
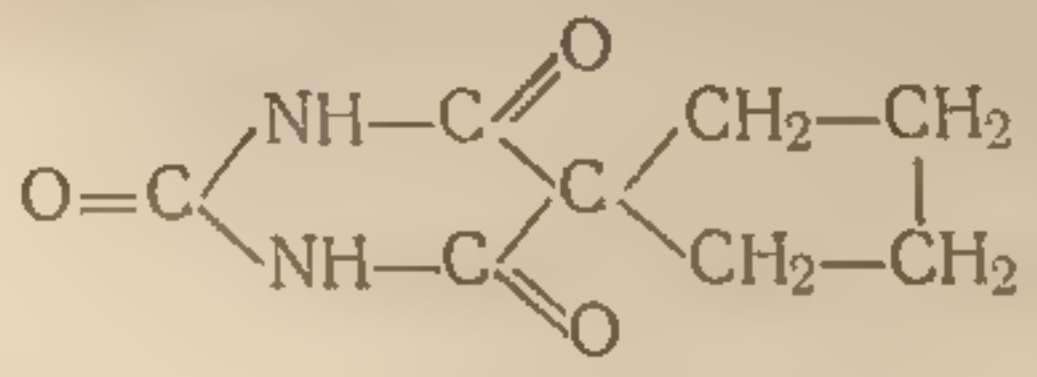
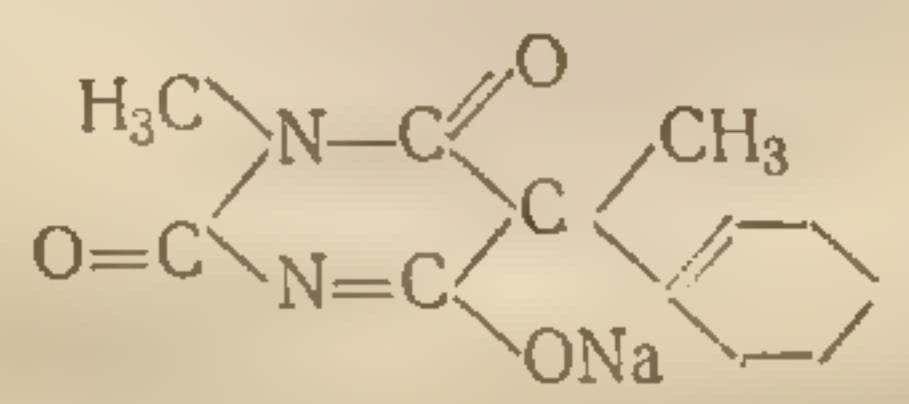
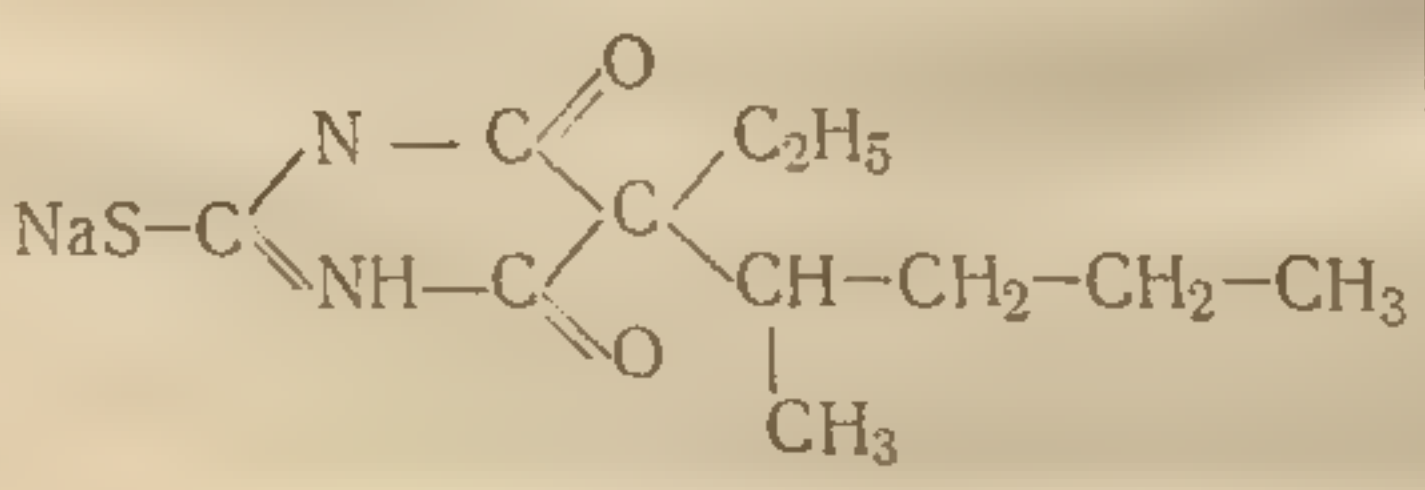
| Гаптен, используемый для иммунизации  | Интенсивность реакции антисыворотки с тест-антигенами, приготовленными с использованием следующих гаптенных групп: |  |   |  |  |  |
|---|--|--|---|--|--|--|
|   |                                  |  |  |  |  |  |
| белок<br> <br>N<br>  <br>N<br> <br><br>COOH      | —  | +++  | —   | ++++   | +++  | +  |
| белок—N<br>  <br>N<br> <br><br>SO <sub>3</sub> H | —  | —  | —   | —  | —  | ++++   |

Еще в 30-е годы Карл Ландштейнер, рассматривая иммунологические реакции с позиций химика, вслед за И. И. Мечниковым, полагал, что центральной фигурой в иммунологическом ответе организма на высокомолекулярный ксенобиотик (антиген) является макрофаг. Макрофаг поглощает чужеродные макромолекулы, целые клетки и субклеточные элементы и при помощи лизосомальных энзимов превращает их в низкомолекулярные. Последние могут далее метаболизироваться другими ферментами.

У высокоорганизованных животных одни только макрофаги не способны сами по себе достаточно эффективно связывать и нейтрализовать чужеродные молекулы, рассеянные по тканям и жидкостям, и препятствовать их взаимодействию с другими специализированными для иных функций клетками. Макрофагам необходимы циркулирующие помощники. Такими помощниками являются раз-

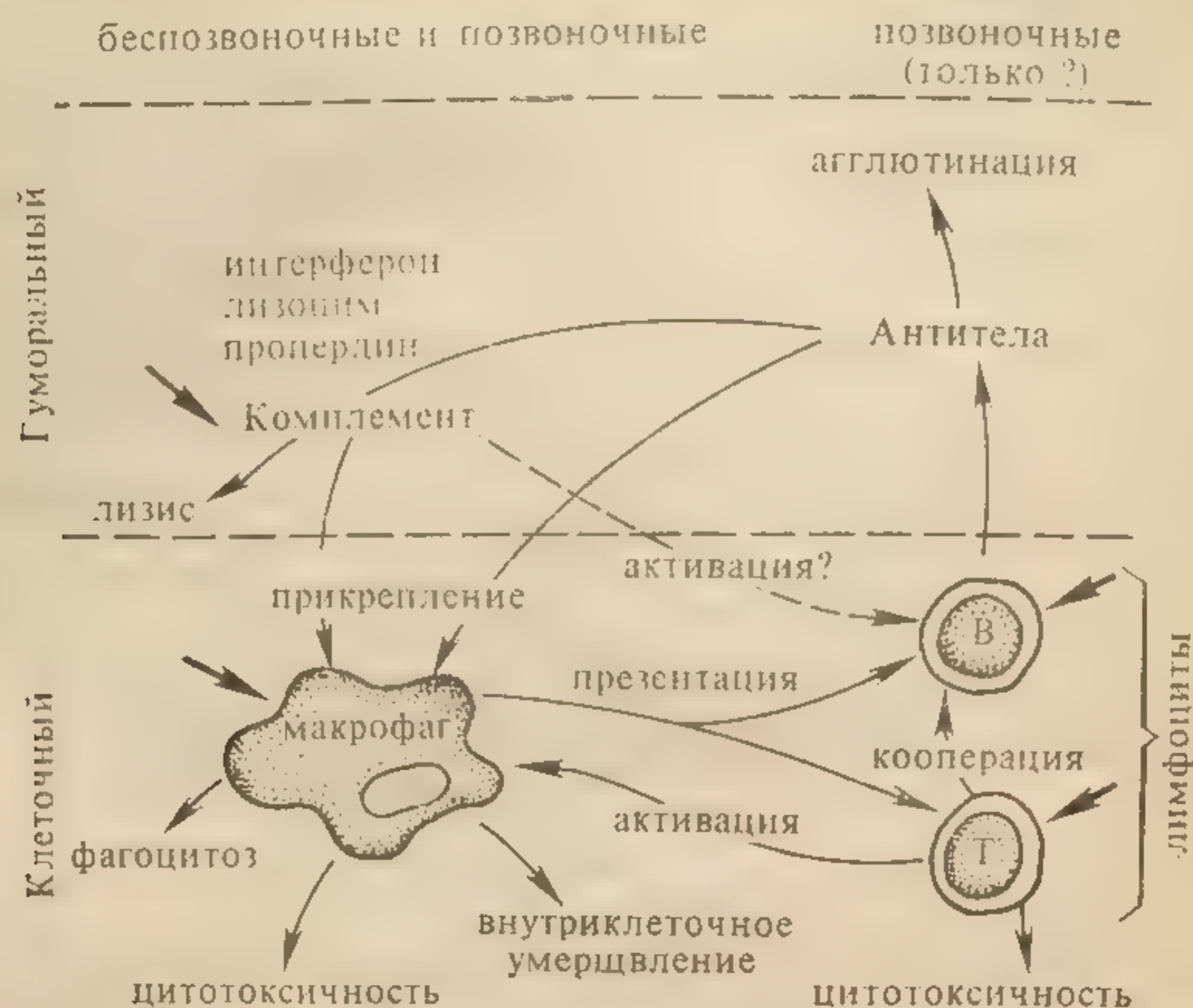


Таблица 25

| Название                                   | Формула  | Титр антител в реакции торможения (свободным фенобарбиталом) пассивной гемагглютинации |
|--|--|--|
| Фенобарбитал                               |    | 1 : 320  |
| Барбитуровая кислота (незамещенная)        |   | 1 : 640  |
| 5-Этил-5-пропил-4-тио-барбитуровая кислота |  | 1 : 320  |
| Рибозид 6-азауроцила                       |  | 1 : 2560   |
| Барбамил                                   |  | 1 : 1280   |
| Циклогексинилдиметилбарбитуровая кислота   |  | 1 : 1280   |
| Спироциклопентабарбитуровая кислота        |  | 1 : 1280   |
| Гексенал                                   |  | 1 : 2560   |
| Тиопентал-натрий                           |  | 1 : 2560   |



личные белки: опсонины, интерферон и др., а также антитела, синтезируемые и выделяемые в кровь лимфоцитами



Лимфоциты и антитела — специализированные факторы иммунитета, развившиеся на поздних этапах эволюции животного мира.

Лимфоциты у млекопитающих представлены двумя существенно отличающимися популяциями, хотя и происходящими из общей стволовой клетки, но проходящими определенную стадию дифференцировки либо в тимусе (Т-лимфоциты), либо в других клеточных структурах, аналогичных бурсе Фабрициуса у птиц (В-лимфоциты). Т- и В-лимфоциты обеспечивают иммунологические реакции различными механизмами. В-лимфоциты — это продуценты антител (иммуноглобулинов), которые, циркулируя по организму, специфически связывают соответствующие антигенные детерминанты. Т-лимфоциты не продуцируют антител, однако имеющимися на их поверхности рецепторами обеспечивают взаимодействие с попавшими извне в организм или образовавшимися в нем самом чужеродными макромолекулами и клетками. Контактируя с последними, Т-лимфоциты способны вызвать их лизис. Иными словами, В-лимфоциты обеспечивают при помощи антител гуморальный иммунитет, а Т-лимфоциты — клеточный.

В настоящее время достаточно хорошо изучена структура антител, многое известно о морфологических и биохимических изменениях в иммунокомпетентных клетках после иммунизации, об образовании клонов лимфоцитов с определенной специфичностью и т. д., однако совершенно не ясно, каким образом индуцируется иммунный ответ на самые разнообразные антигены (в основном на небольшие участки химических структур макромолекул). Для решения этой задачи необходим эволюционный подход и анализ явления с учетом новейших достижений разных областей науки.

Молекулярной фармакологии считают макрофаги частью более общей системы из организма чужеродных ксенобиотиков. Эти ксенобиотики становятся так и высокомолекулярными, так и низкомолекулярными агентами (фармакологических соединений). Фармакология посвящено большое количество представлений о ксенобиотике.

Накоплены данные о суд... попытка объединить эти две гр... зрения и создания определе... нее время (И. Е. Ковалев, 19...

Низкомолекулярные ве... жидкостях, взаимодействующ... на это вещество завис... которыми связывается вещ... другими узкоспециализиро... цированными клетками им... обеспечивает быстрое связ...

Накоплено уже доста... иммунной реакцией на ко... микросомальных фермент... ные ксенобиотики, имеетс... реакция в своей молекуля... дукция микросомальных...

По мнению специалис... «в виде цитохрома Р-450... шать живые организмы к... так и от тех, которые... 1975).

Независимо друг от... о системе иммунитета, рас... Указанная аналогия... чение которой может сыг... иммунитета.

Практически любая к... (метаболизировать) попа... Высокомолекулярные ксе... к эндоцитозу (пиноцитоз... ций и их качественност... ток может сильно ва... кулоэндотелиальная... мин РЭС предлож... стема», однако б... вычным старым



## § 2. Связь системы иммунитета с другими детоксицирующими системами организма

Молекулярной фармакологией накоплены новые данные, позволяющие считать макрофагально-лимфоцитарную систему иммунитета частью более общей системы, обеспечивающей метаболизм и выведение из организма чужеродных химических соединений, нередко именуемых ксенобиотиками (*xenos* — чужой), как низкомолекулярных, так и высокомолекулярных.

Эти ксенобиотики стали объектом исследований пока еще мало связанных областей науки — биохимической фармакологии (для низкомолекулярных агентов) и иммунологии (для высокомолекулярных агентов). Фармакокинетике низкомолекулярных органических соединений (в том числе и фармакологических) в организме посвящено большое количество исследований. Имеются довольно ясные представления о ферментных системах, метаболизирующих ксенобиотики.

Накоплены данные о судьбе высокомолекулярных ксенобиотиков. Однако попытка объединить эти две группы фактов, их общего анализа под единым углом зрения и создания определенной концепции была сделана лишь в последнее время (И. Е. Ковалев, 1977).

Низкомолекулярные вещества, введенные в организм или имеющиеся в его жидкостях, взаимодействуют со всеми клетками. Возникает вопрос, какая реакция на это вещество зависит от самой клетки, ее мембранных компонентов, с которыми связывается вещество, и ее ферментов? Макрофаги по сравнению с другими узкоспециализированными на определенную функцию высокодифференцированными клетками имеют такое строение поверхностной мембраны, которое обеспечивает быстрое связывание самых разнообразных соединений.

Накоплено уже достаточно много фактов, свидетельствующих, что между иммунной реакцией на ксеногенное полимерное вещество (антиген) и реакцией микросомальных ферментов, метаболизирующих гидрофобные низкомолекулярные ксенобиотики, имеется определенная взаимосвязь и что, возможно, иммунная реакция в своей молекулярной основе базируется на тех же принципах, что и индукция микросомальных ферментов и микросомальных мембран.

По мнению специалистов, работающих в области микросомального окисления, «в виде цитохрома Р-450 природа создала фермент, способный успешно защищать живые организмы как от многих уже синтезированных токсических веществ, так и от тех, которые могут быть изготовлены в будущем» (А. И. Арчаков, 1975).

Независимо друг от друга абсолютно все то же самое говорят иммунологи о системе иммунитета, распознающей антигенные детерминанты.

Указанная аналогия — это не случайное совпадение, а закономерность, изучение которой может сыграть важную роль в понимании основных механизмов иммунитета.

Практически любая клетка в той или иной степени способна нейтрализовать (метаболизировать) попадающие в организм низкомолекулярные ксенобиотики. Высокомолекулярные ксенобиотики нейтрализуются только клетками, способными к эндоцитозу (пиноцитозу и фагоцитозу). Интенсивность ферментативных реакций и их качественность, определяемая набором ферментов, у разных типов клеток может сильно варьировать. Мощной метаболической системой является ретикулоэндотелиальная система (РЭС). Нужно отметить, что в последнее время термин РЭС предложили заменить названием «моноклеарная фагоцитарная система», однако большинство исследователей пока продолжает пользоваться привычным старым термином.

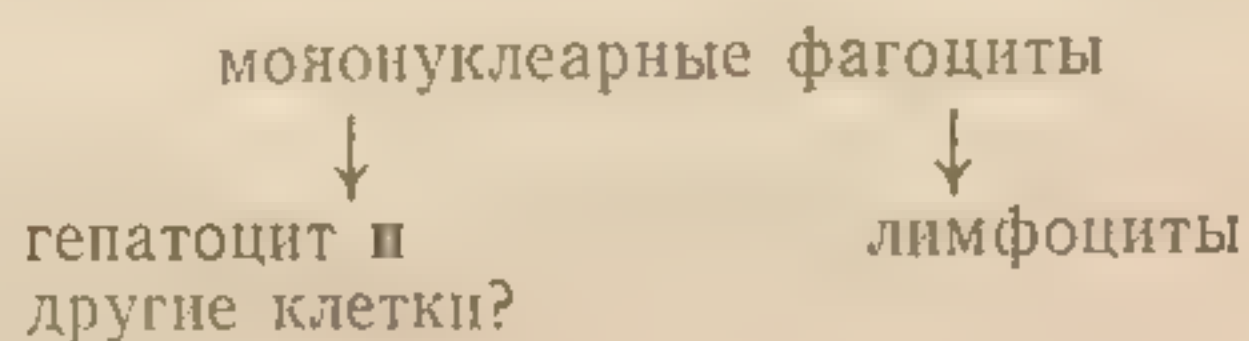


Сейчас доказано, что РЭС не только задерживает различные макромолекулярные субстраты эндогенного и экзогенного происхождения и вместе с лимфоцитами участвует в иммунных реакциях, но и выполняет многие другие важнейшие функции, например: а) метаболизм железа и образование билирубина после эритрофагоцитоза или поглощения гемоглобина и его разрушения; б) клиренс стероидов и их метаболизм; в) метаболизм и экскреция холестерина; г) клиренс и детоксикация эндотоксина и других токсических веществ; д) метаболизм лекарств и детоксикация.

Клетки РЭС универсальны, обеспечивают как метаболизм низкомолекулярных химических соединений, так и высокомолекулярных. По-видимому, на базе этих эволюционно более древних «вездесущих» клеток строится дополнительная, специализированная защита от ксенобиотиков у высших животных.

Для эффективной защиты от низкомолекулярных химических соединений, попадающих главным образом из желудочно-кишечного тракта, макрофаги (Купферовские клетки) кооперируются с гепатоцитами, а для «вылавливания» из тканевых жидкостей и нейтрализации высокомолекулярных соединений макрофаги кооперируются с лимфоцитами.

В общем, основная, метаболизирующая любые типы ксенобиотиков система может быть представлена следующим образом:



Кооперация между макрофагами и лимфоцитами, обеспечивающая нейтрализацию макромолекул (в том числе антигенов), интенсивно изучается, а макрофагов с другими клетками (в том числе с гепатоцитами) пока исследуется мало. Однако необходимо изучать систему, метаболизирующую ксенобиотики в целом. Для этого требуются как иммунологические знания, так и биохимикофармакологические. Следует отметить, однако, что метаболизм ксенобиотиков не единственная функция указанной системы. Она одновременно принимает активное участие в метаболизме важнейших эндогенных веществ, таких, как стероидные гормоны, холестерин, жирные кислоты, тироксин и др.

Чужеродные соединения и метаболиты, попадающие в организм извне (с пищей или другими путями), либо образующиеся в нем самом, плохо выводятся, если представляют собой жирорастворимые и высокомолекулярные агенты. Следовательно, для их инактивации и удаления должны существовать специальные системы. Жирорастворимые соединения легко проникают в клеточные мембраны и связываются с их липидными компонентами. Удалить их оттуда можно только, переводя их в гидрофильную форму. В клетках имеется монооксигеназная система ферментов, которая располагается в липидном слое эндоплазматического ретикулума, осуществляющая этот химический процесс. Высокомолекулярные агенты, состоящие из многих низкомолекулярных фрагментов, проходят, по-видимому, более сложный путь превращения.

Жирорастворимые чужеродные соединения, в том числе фармакологические препараты, экскретируются с мочой только в малых или следовых количествах. Полагают, что если бы не было ферментных систем печени, превращающих жирорастворимые вещества в водорастворимые, то они бы накапливались в организме (Remmer, Bock, 1974).

Высокомолекулярные соединения так же, как и жирорастворимые, не могут сами по себе без соответствующих метаболических превращений покинуть организм.

Основные ферменты, участвующие в метаболизме ксенобиотиков и локализованные в эндоплазматическом ретикулуме, представлены ниже:

Итопизма

Мембрана  
эндоплазматического  
ретикулума

Наиболее важным растворимых соединений вещества. Это окисление (белок), участвующим в этот процесс в определенных флавопротеидов к молекулам.

Все химические соединения, участвующие в организме, идут на определенном этапе могут давать индукцию, естественно при исчезновении значительно более низкого гиперактивности было. Однако экономично с точки зрения его в организме нитрата как раз и задерживается ранее в организме, значительно более кривых чужеродное для организма сначала происходит, вень интенсивности будет в принципе сходящая система уже инадежна» (поддерживает уровень работы, то кулы, в том, чтобы попадают в организм, шей ферментативной мембранами эндоцитоза.

Многочисленные исследования в пренатальном периоде тот же антиген, интенсивные исследования последние, что у телят-близнецов крови и что эритроциты. В 1949 г. Вигнет и другие исследователи вирусом лимфоцитарной инфекции. Они считают, что некоторые органы, которые органы. Они также г





Наиболее важным этапом метаболизма является окисление почти всех жирорастворимых соединений с превращением их в более полярные водорастворимые вещества. Это окисление осуществляется цитохромом P=450 (железосодержащий белок), участвующим в переносе электронов в аэробных клетках. Включаясь в этот процесс в определенной последовательности, они переносят электроны от флавопротендов к молекулярному кислороду.

Все химические соединения низко- и высокомолекулярные, постоянно присутствующие в организме, не могут что-либо индуцировать, так как их обмен уже идет на определенном уровне. Только соединения, не имеющиеся в организме, могут давать индукцию. Причем индуцированная ферментная система вполне естественно при исчезновении субстрата должна «затухать» и возвращаться к значительно более низкому «фоновому» уровню. Поддерживать ее в постоянной гиперактивности было бы крайне неэкономично для клетки и организма в целом. Однако экономично сохранить «память» об индукторе и при повторных попаданиях его в организм более интенсивно осуществлять индукцию. Сущность иммунитета как раз и заключается в длительном сохранении «памяти» об имевшемся ранее в организме ксенобиотике. Для низкомолекулярных агентов «память» значительно более кратковременная. Если какое-либо вещество, в обычных условиях чужеродное для организма, вводить в определенной дозе длительно, то сначала происходит индукция, а затем устанавливается некий постоянный уровень интенсивности его метаболизма, т. е. реакция организма на ксенобиотик будет в принципе сходной с таковой на эндогенные молекулы. Если метаболическая система уже индуцирована макромолекулярным ксенобиотиком и «переведена» (поддерживается) длительным постоянным введением на определенный уровень работы, то не требуется помощь клеткам, поглощающим эти макромолекулы, в том, чтобы их разрушать («переваривать»). Если же макромолекулы попадают в организм впервые, то в отсутствие достаточного уровня соответствующей ферментативной активности ее компоненты длительно взаимодействуют с мембранами эндоцитировавших их клеток и вызывают индукцию иммунного ответа.

Многочисленные исследования показали, что различные антигены, введенные в пренатальном периоде, могут вызывать специфически измененную реакцию на тот же антиген, инъектируемый после рождения животного (Hasek, 1953). Эти исследования последовали за открытием Owen (1945), который обратил внимание, что у телят-близнецов эритроциты часто относятся к двум различным группам крови и что эритроциты обеих групп сохраняются в течение всей жизни. В 1949 г. Burnet и Fenner сопоставили результаты, полученные Owen, с данными других исследователей, обнаруживших, что внутриутробное заражение мышей вирусом лимфоцитарного хориоменингита приводит к длительной бессистемной инфекции. Они сочли это за свидетельство толерантности эмбриона к агентам, которые организмом взрослого животного были бы отторгнуты как чужеродные. Они также выдвинули концепцию, согласно которой проблема распознавания



«своего» и «несвоего» является центральной в иммунологии. Было предсказано, что введение эмбриону соответствующих антигенов вызовет формирование в организме толерантности к этим антигенам. Это подтвердилось в дальнейшем (Hasek, 1953; Billingham et al., 1953). «Исходная концепция толерантности признает важнейшим моментом процесса эмбриогенеза установление своего рода «табу» на иммунные реакции по отношению к циркулирующим компонентам собственного организма» (Бернет, 1971). Однако «следует подчеркнуть, что толерантность, как и любое другое иммунологическое явление, не имеет четко очерченных границ и по существу всегда является частичной» (Бернет, 1971). Бернет пытался объяснить это явление элиминацией определенных клонов лимфоцитов. Однако, по-видимому, объяснение этого феномена нужно искать на уровне клеточных индуцибельных ферментов.

Было показано, что специфическое изменение реакции организма на ксенобиотик, например на морфин, развивается у животных, которым пренатально вводили этот агент в определенных дозах. Для доказательства возможности таким образом вызывать изменение метаболической реакции на низкомолекулярный ксенобиотик, конечно, должны быть поставлены более убедительные эксперименты.

Следует отметить, что процесс индукции как основа, иммунологического ответа был гипотетически представлен еще Эрлихом (рис. 24).

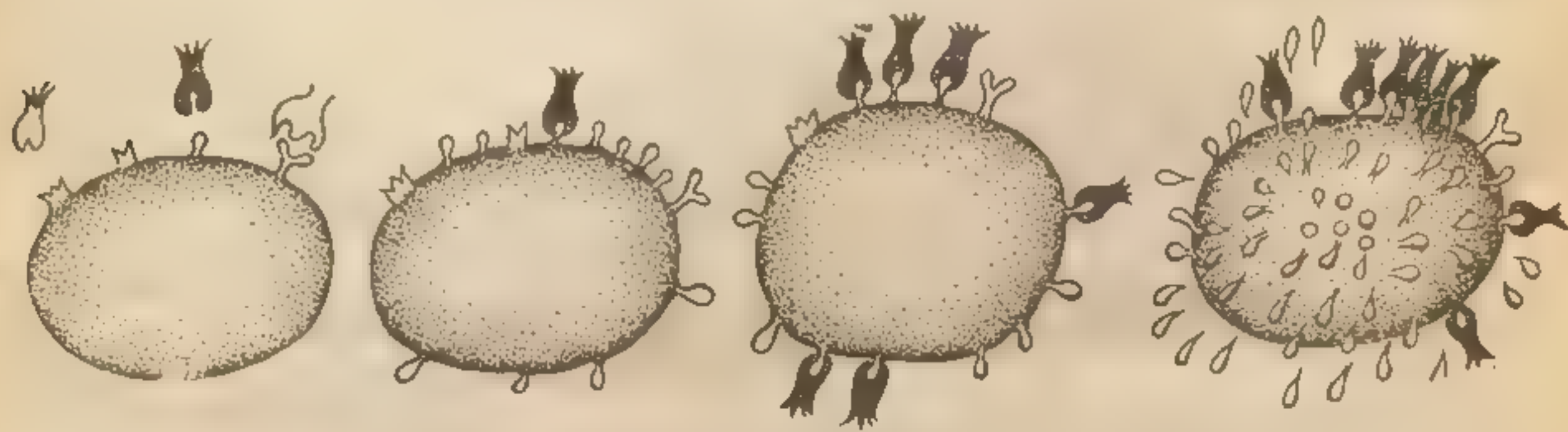


Рис. 24. Схема индукции токсином (антигеном, ксенобиотиком) синтеза «боковых цепей», связывающих токсин (Ehrlich)

Повторные введения животным низкомолекулярных ксенобиотиков приводят к значительно более мощной индукции микросомальных ферментов, чем однократные. Повторные введения высокомолекулярных ксенобиотиков (антигенов) способствуют также более сильной индукции иммунного ответа, т. е. развиваются гипериммунизация с высокими титрами антител в крови и увеличением популяции лимфоцитов, реагирующих с данным антигеном. При слишком интенсивном антигенном воздействии вместо гипериммунизации может развиваться состояние толерантности, т. е. отсутствие иммунного ответа на данный антиген. О возможной причине этого явления см. с. 314.

Индукция ферментов, метаболизирующих чужеродные химические соединения, легко осуществима введением индукторов животным. Индукция *in vitro* не столь простая задача. Совершенно аналогичная ситуация имеется и в отношении иммунных ответов.

Индукция микросомальных ферментов печени сопровождается характерными изменениями морфологии клеток. Так, при введении в течение нескольких дней фенобарбитала увеличивается общий объем гепатоцитов и содержание в них гладких мембран эндоплазматического ретикулума, поверхность которого значительно возрастает. Наблюдается также увеличение объема клеточных ядер и мембран аппарата Гольджи. Через несколько дней после отмены введения ксенобиотика все эти изменения исчезают. Аналогичным образом после инъекции эритроцитов барана мышам на 4—5 день наблюдается пик развившихся с очень низкого исходного уровня антителопродуцирующих клеток. Однако после этого

процесс затухает и возвращается к исходному.

После предварительного определенного промежутка времени более интенсивно предварительная сенситизация и в случае реакции микротоксина, например на фенобарбитал, чрезвычайно важная роль принадлежит фенобарбиталу. Для этой цели лучше всего использовать фенобарбитал, а более действующий с мембраной лантрон или другой полувыводород.

Различные ксенобиотические действия с цитохромом руют за фермент (см. в ответствии с их гидрофобностью, с взаимодействием компонентами мембраны они могут мешать ванию веществ с более связывания и концентрации, что микросомальная система ферментов находится в окружении и спонтанно. Есть данные, показывающие, например производных скорости метаболизма. тельно находящиеся в состоянии связывания с мембраной микросомальных ферментов не специфична по отношению к различным классам соединений, конкурируют в антигеном, в котором фенольная и азофенольная феноларсонатной детерминанты для каждой из клеток и конкурентируют в случае разные антигенные клеточная конкуренция и низкомолекулярного вещества с продукцией гаптенов и ферментов и в сказать трудно.

Предварительное исследование с макромолекулярными соединениями, среди которых углеводороды (кан



процесс затухает и вскоре количество антителообразующих клеток становится близким к исходному.

После предварительного введения животным антигена последующая (через определенный промежуток времени) инъекция того же антигена вызывает значительно более интенсивный иммунный ответ (вторичный), чем в том случае, когда предварительная сенсibilизация не проводится (рис. 25), т. е. существует некая «иммунологическая память». Элементы сходной памяти могут быть обнаружены и в случае реакции микросомальных ферментов на низкомолекулярный ксенобиотик, например на фенобарбитал. Правда, для окончательного доказательства этого чрезвычайно важного положения необходим прямой эксперимент, показывающий наличие «ферментативной мембранной» памяти на низкомолекулярный агент аналогично тому, как это происходит при иммунном ответе. По-видимому, для этой цели лучше использовать не фенобарбитал, а более интенсивно взаимодействующий с мембранами метилхолантрен или другой полициклический углеводород.

Различные ксенобиотики при взаимодействии с цитохромом Р-450 конкурируют за фермент (см. с. 76). В соответствии с их гидрофобностью и, следовательно, с взаимодействием с липидными компонентами мембраны и концентрацией они могут мешать гидроксилированию веществ с более низкой энергией связывания и концентрацией. Полагают, что микросомальная окислительная система ферментов находится в липидном окружении и способна взаимодействовать только с неполярными субстратами. Есть данные, показывающие, что индуцирующая активность ксенобиотиков, например производных барбитуровой кислоты, зависит от их гидрофобности и скорости метаболизма. Гидрофобные и медленно гидроксилирующиеся, т. е. длительно находящиеся в мембране, вещества — сильные индукторы. Это длительное связывание с мембраной, по-видимому, — определяющий момент в индукции как микросомальных ферментов, так и иммунного ответа. «Рецепторная» функция микросомальных мембран, содержащих цитохромы Р-450, Р-448, как известно, не специфична по отношению к одному субстрату, а распространяется на определенные классы соединений. Аналогично этому давно известна способность антигенов конкурировать в индукции синтеза антител. Например, при иммунизации антигеном, в котором к одной и той же молекуле белка присоединена динитрофенильная и азотрофенилсульфонатная группы, антитела образуются только к динитрофенильной детерминанте. При иммунизации белком, конъюгированным азотрофенилсульфонатной или динитрофенильной группой, образуются антитела, специфичные для каждой из детерминант. Не исключено, что в первом случае антигенные детерминанты попадают благодаря общему носителю в одну и ту же клетку и конкурируют в ней на уровне метаболизирующих структур. Во втором случае разные антигенные детерминанты попадают в разные клетки и внутриклеточная конкуренция не происходит.

Есть данные, показывающие, что предварительное многократное введение низкомолекулярного вещества (гаптена) препятствует индукции иммунного ответа с продукцией гаптенспецифических антител при последующем введении конъюгированного антигена гаптен — белок. Связано ли это с индукцией микросомальных ферментов в связи с этим с торможением иммунного ответа, пока сказать трудно.

Предварительное искусственное ковалентное связывание низкомолекулярного соединения с макромолекулярным носителем вовсе не обязательное условие развития иммунного ответа. Определенные низкомолекулярные органические соединения, среди которых можно выделить лекарственные вещества, полициклические углеводороды (канцерогены) и др., способны не только подвергаться

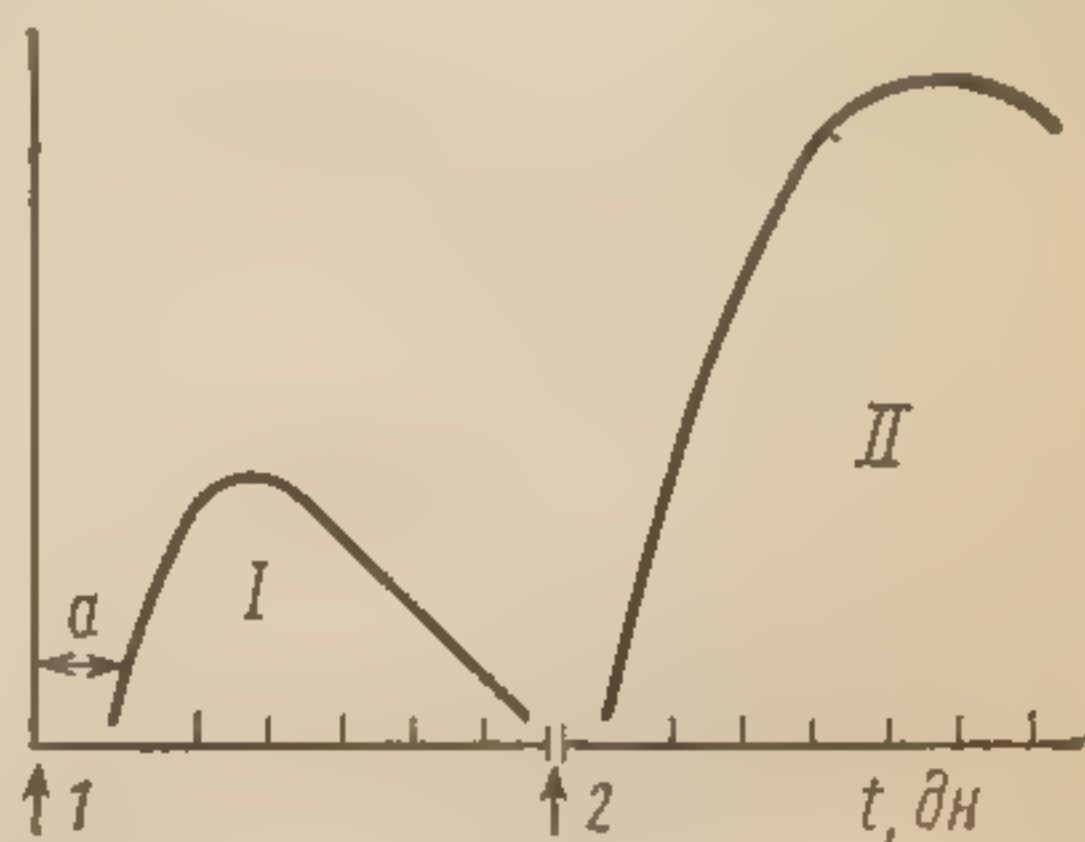
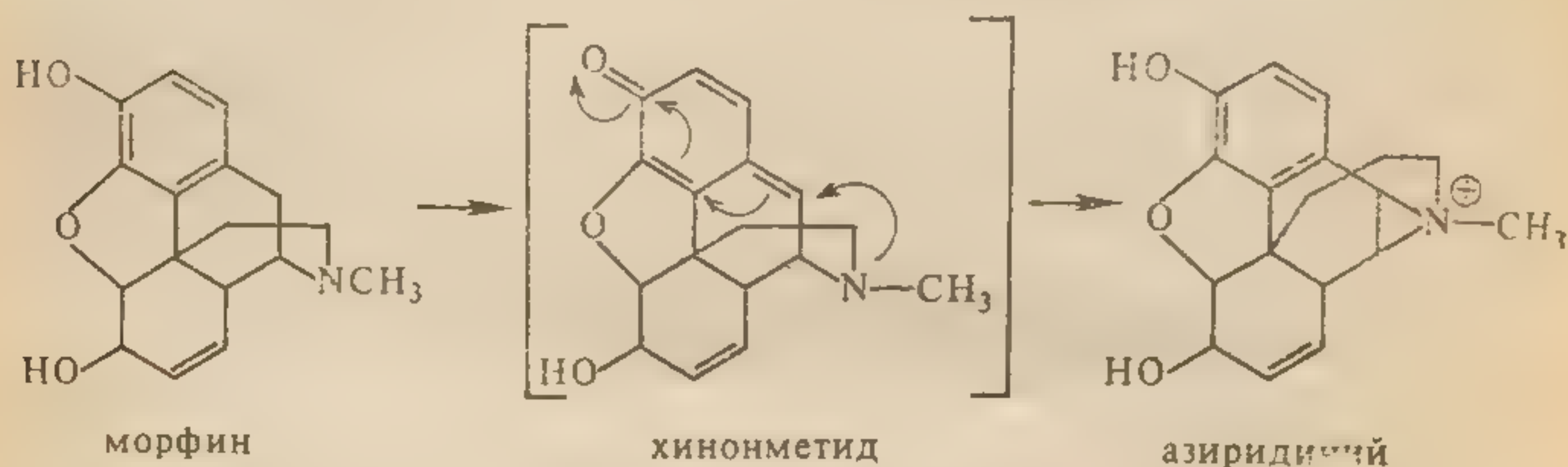


Рис. 25. Первичный и вторичный иммунный ответ (общий принцип):

стрелки — инъекции антигена; — латентный период



метаболической биотрансформации в клетке, но и индуцировать иммунную реакцию. Морфин, аминазин, дигоксин и многие другие вещества вызывают синтез антител, специфически связывающих их. Хотя при этом в организм вводится низкомолекулярное соединение, это не означает, что оно в таком виде и является индуктором иммунного ответа. Показано, что низкомолекулярные соединения могут образовывать ковалентную связь с белками организма. Причем такая ковалентная связь может возникать под влиянием микросомальных ферментов, превращающих ксенобиотик в высокореакционноспособное вещество. Например, предложен следующий путь, которым морфин связывается с макромолекулами в клетке (Herndon et al., 1976):



Образование таких конъюгатов в организме служит сигналом для продукции антител, «вылавливающих» в крови подобные вещества и предупреждающих их попадание в клетки. Таким образом, между механизмами иммунитета, обеспечивающими нейтрализацию и выведение из организма макромолекулярных ксенобиотиков (антигенов), и механизмами микросомального окисления ксенобиотиков существует тесная функциональная взаимосвязь. Она прослеживается также и на других примерах.

Показано, что при введении животным антигенных субстратов (убитые суспензии *Corynebacterium parvum*, *Bacillus Calmette-Guerin*) метаболизм лекарственных веществ (барбитуратов, противоопухолевых средств и др.) замедляется. Анилингидроксилазная активность микросом печени крысы ослабляется в условиях применения указанных иммуногенных субстратов — стимуляторов РЭС.

Макрофагально-лимфоцитарный комплекс в ответ на введение антигена продуцирует белки (иммуноглобулина), специфически связывающие его детерминанты и способствующие более быстрому поглощению и инактивации антигена клетками этого комплекса. Клетки печени, которые очень интенсивно окисляют ксенобиотики, синтезируют альбумин. Хорошо известно, что именно альбумин играет роль основного детоксицирующего белка, связывающего различные соединения, т. е. альбумин наряду с другими функциями может выполнять и функцию, напоминающую таковую у иммуноглобулинов, но его специфичность более низкая. Так же, как и иммуноглобулины, альбумины могут транспортировать различные вещества в клетки, обладающие способностью пиноцитировать, где молекулы альбумина поступают в лизосомы и гидролизуются до аминокислот. На основании анализа механизма действия ферментных систем клеток печени А. И. Арчаков (1975) пришел к выводу, что микросомальное окисление, дополняемое альбумином, представляет оптимальную детоксицирующую систему. Отсюда следует, что система иммунокомпетентных клеток с ее ферментами и более специфически действующим белком иммуноглобулином, также исключительно мощная детоксицирующая система, построенная по сходному принципу и дополняющая детоксицирующую функцию печени. Причем печень и лимфоидная ткань осуществляют детоксикацию в тесном взаимодействии. По мнению П. В. Сергеева и др. (1971), «первичная индукция ферментов печени и, следовательно, кинетики метаболических процессов отражается на функциональном состоянии лимфоидной ткани».

В результате  
очень интерес  
следует по  
в печени, а  
селезенке и т.  
Во всем  
инструментом  
индукция НАДФ  
b<sub>5</sub> и Р-450, кото  
шую резистентно  
Итак, систем  
снпирующая сист  
бактерии и расте  
положить, что в  
полнительная сн  
ская.

Иммунолога  
вующие о генет  
кулярный ксено  
Р. В. Петро  
мерность: 1) од  
ной силы — от 0  
2) один и тот же  
отношению к ра  
гической реакти  
всегда конкретн  
му — другая, к т

Следует отмети  
ведутся исследовани  
ролируется моноокс  
1957; Conney, 1967;  
пирен-гидроксилаза  
круга гидрофобных  
а также эндогенных  
ная система индуци  
питающих как фено  
дородами. Установле  
полициклическими а  
трин, находясь под  
мышей АГГ индуцир  
печеночная АГГ-акти  
трена, хотя небольши  
не менее эти линии с  
бензо-*p*-диоксин или  
мышей вовлекает, как  
ских локусах.

Таким образом  
ки детерминирован  
11\*



В результате изучения структуры альбумина и иммуноглобулина G получены очень интересные данные, свидетельствующие об их функционально-структурном сходстве.

Следует подчеркнуть, что гидроксигирующие системы обнаружены не только в печени, но и в других органах: надпочечниках, почках, легких, мозге, плаценте, селезенке и т. д.

Во всем животном мире обсуждаемая система является универсальным инструментом, охраняющим организм от ксенобиотиков. Например, у насекомых индукция НАДФН- и НАДН-специфических редоксцепей, содержащих цитохромы  $b_5$  и P-450, которые имеются в разных тканях, ответственна за легко возникающую резистентность насекомых к инсектицидам.

Итак, система ферментов, вовлекающих цитохром P-450 — основная детоксигирующая система у любых (или почти любых) клеток живых существ от бактерии и растения до человека. На основании всего изложенного можно предположить, что в процессе эволюции у многоклеточных животных развилась дополнительная система защиты от высокомолекулярных агентов — иммунологическая.

### § 3. Генетический контроль защитных реакций организма

Иммунологами получены многочисленные данные, свидетельствующие о генетическом контроле иммунного ответа на макромолекулярный ксенобиотик (антиген).

Р. В. Петров и другие установили следующую важную закономерность: 1) один и тот же антиген вызывает иммунный ответ разной силы — от 0 до очень высокого у животных разных генотипов; 2) один и тот же организм бывает в разной степени реактивным по отношению к разным антигенам. Отсюда понятие «общей иммунологической реактивности» неверно. Иммунологическая реактивность всегда конкретна: по отношению к одному антигену одна, к другому — другая, к третьему — третья.

Следует отметить, что в ряде лабораторий за рубежом в течение 10 лет ведутся исследования, в которых делается попытка понять, как генетически контролируется монооксигеназная ферментативная активность у эукариотов (Mason, 1957; Conney, 1967; Nayaishi, 1969; Nebert et al., 1975). Арилуглеводород-бензпирен-гидроксилаза (АГГ) — оксигеназа, ответственная за метаболизм широкого круга гидрофобных ксенобиотиков, включая многие лекарства и канцерогены, а также эндогенные вещества, например, стероиды и жирные кислоты. Эта энзимная система индуцируется в печени и других органах большинства видов млекопитающих как фенобарбиталом, так и полициклическими ароматическими углеводородами. Установлено, что у мышей индукция печеночной и непеченочной АГГ полициклическими ароматическими углеводородами, такими, как 3-метилхолантрен, находится под генетическим контролем Ah локуса. У определенных линий мышей АГГ индуцируется сильно, а у других слабо. У «неотвечающих» мышей печеночная АГГ-активность не увеличивается после введения им 3-метилхолантрена, хотя небольшое увеличение наблюдается в некоторых других тканях. Тем не менее эти линии способны отвечать на другой индуктор — 2,3,7,8-тетрахлордибензо-*p*-диоксин или ТХДД. Регуляция ответа на ароматический углеводород у мышей вовлекает, как минимум, шесть аллелей при двух несвязанных генетических локусах.

Таким образом, можно подчеркнуть, что реакция на ксенобиотики детерминирована генетически.

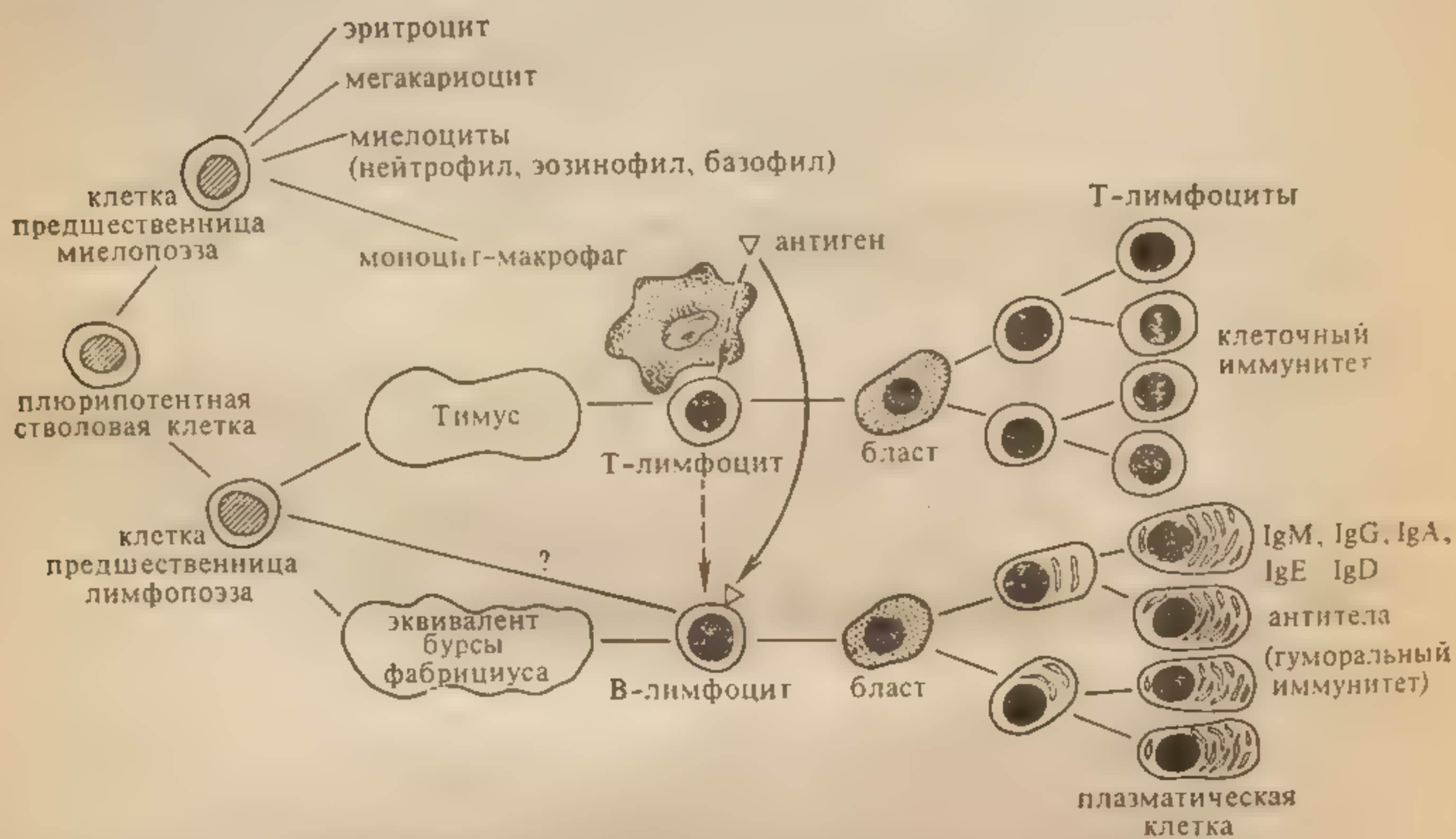


## ГЛАВА 2

### ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ И ДЕЙСТВИЕ НА НИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

#### § 1. Клеточные и молекулярные механизмы иммунных ответов

Общепризнано, что главными клетками, обеспечивающими иммунологические реакции на чужеродные для данного организма молекулы, являются макрофаги и лимфоциты. Последние, как уже отмечалось, у млекопитающих представлены двумя основными популяциями: Т- и В-лимфоцитами:



Т-лимфоциты обеспечивают так называемый клеточный иммунитет. Они способны лизировать чужеродные клетки следующим механизмом:

#### Этапы:

специфическое связывание

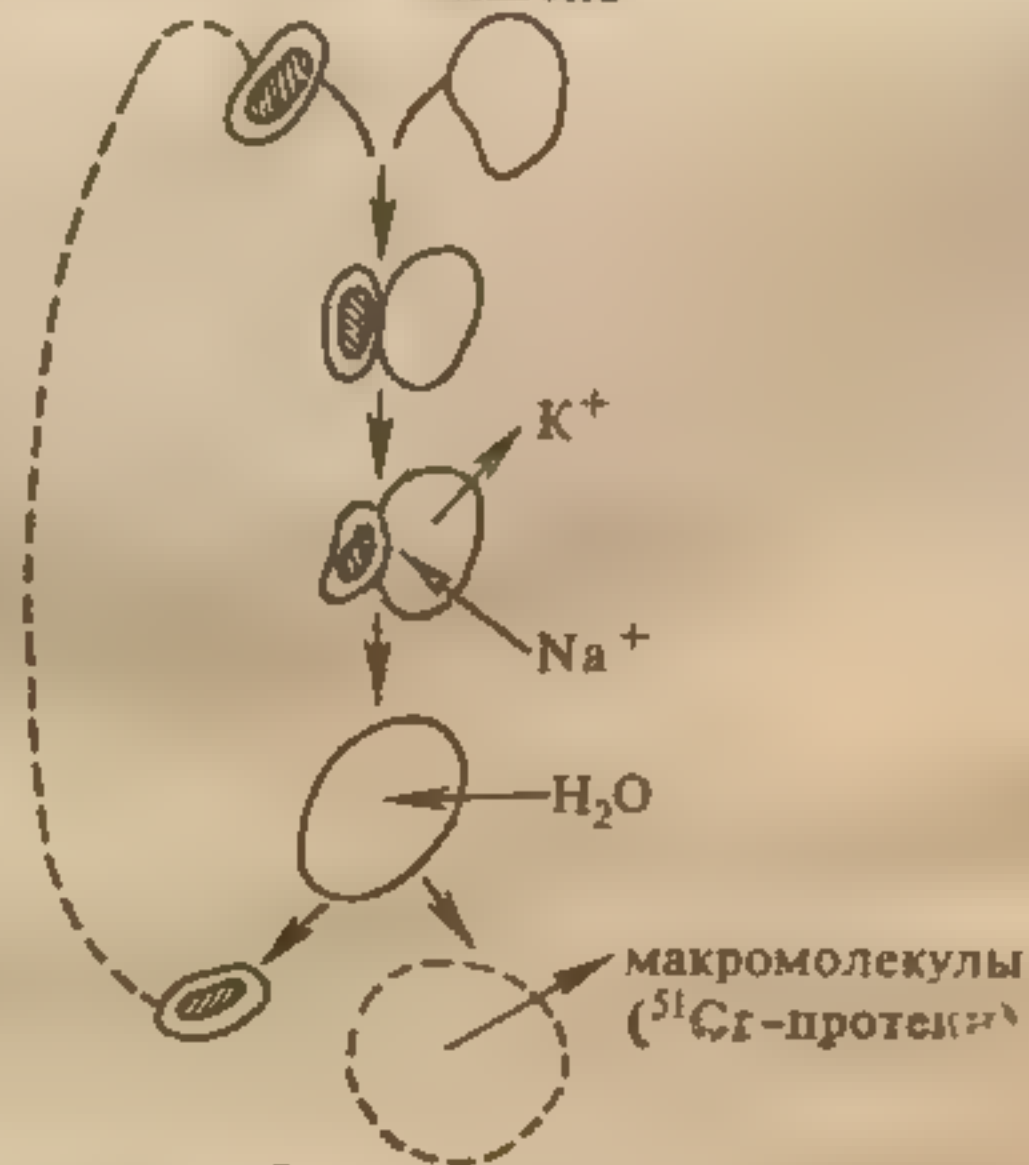
стимуляция?

изменения мембранной проницаемости

осмотическое набухание

лизис

Т-эффекторная клетка клетка-мишень



#### Ингибиторы

ЕДТА  
Цитохалазин В  
Антитела к клетке-мишени

$PGE_1$   
изопротеренол,  
колхицин,  
винбластин

$t < 4^\circ C$

макромолекулы  
(декстран 40000)

Клетки, относящиеся к классу (антитела), биотин. Существует пять биологических функций, которые определяют их ответственность как за, или за, значают как  $\lambda$ , или  $\lambda$ , либо  $2\lambda$  цепи. IgA оседают через внешние мембраны IgG является главными за связывание пещивающих их поглощающих

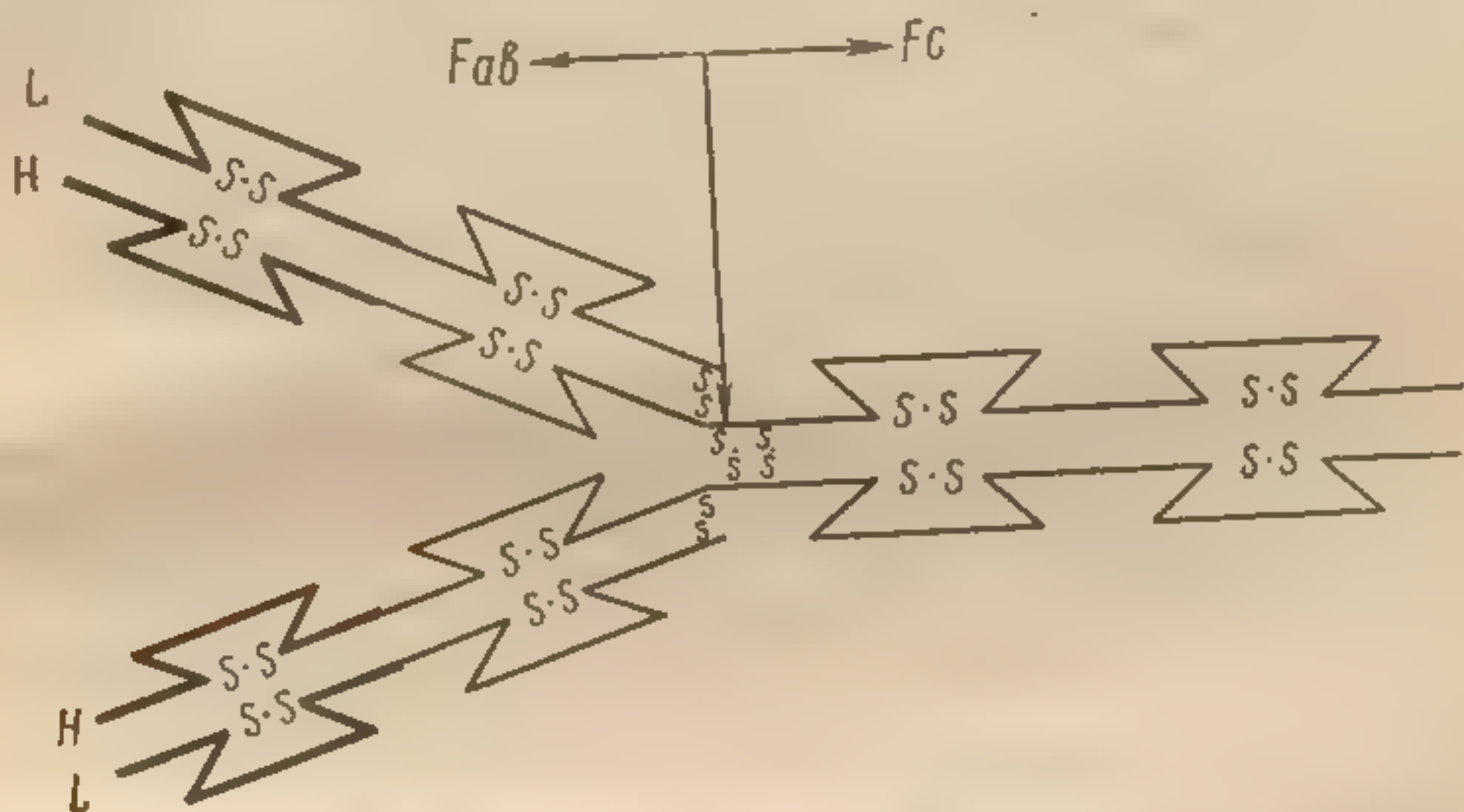
Полагают, что клетки с происхождением своей специфичности в вариабельных областях. В самых общих чертах этапов. Макрофаг захватывает и облегчает последующую формацию об антигене (макрофага) превращаются



Клетки, относящиеся к В-лимфоцитарной популяции, продуцируют иммуноглобулины (антитела), связывающие и нейтрализующие соответствующие ксенобиотики.

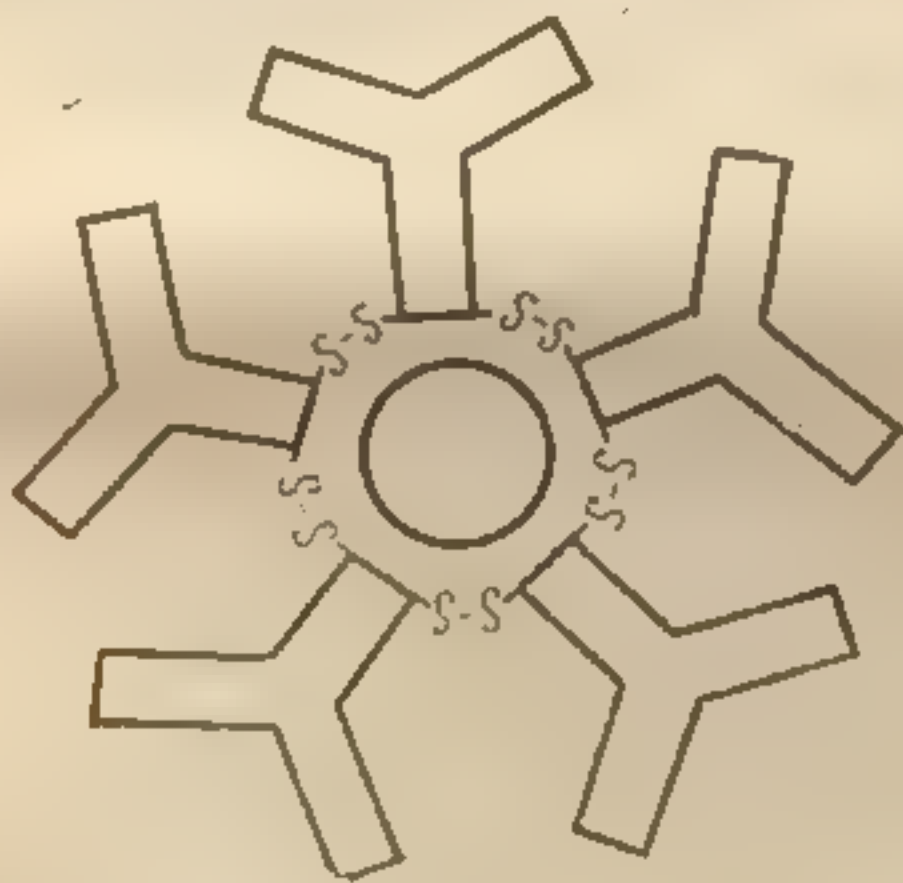
Существует пять основных классов иммуноглобулинов, отличающихся по биологической функции и имеющих различные тяжелые цепи ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  или  $\mu$ ), которые определяют их свойства. Название этих классов иммуноглобулинов соответствует названию тяжелых цепей: IgA, IgD, IgE, IgG, IgM. Легкие цепи обозначают как  $k$ , или  $\lambda$ , например IgG-молекула может содержать либо 2  $k$  цепи, либо 2  $\lambda$  цепи. IgA осуществляют защиту против внедрения чужеродных агентов через внешние мембраны.

IgG является главным классом циркулирующих антител, в основном ответственных за связывание антигенных веществ в крови, тканевых жидкостях и обеспечивающих их поглощение соответствующими клетками:



IgE ответственны за реакции гиперчувствительности, такие, как аллергическая астма, дерматиты и др. О функции IgD известно мало.

IgM — крупная молекула (макроглобулин), продуцируемая теми же клетками, что и клетки, продуцирующие IgG:



Полагают, что клетки сначала при иммунном ответе синтезируют IgM, а затем происходит переключение этого синтеза на продукцию IgG с аналогичными по своей специфичности местами связывания (активными центрами).

Места, которыми антитела связывают антигенные детерминанты, находятся в вариабельных областях легких и тяжелых цепей.

В самых общих чертах иммунный ответ на антигены состоит из следующих этапов. Макрофаг захватывает антиген, перерабатывает его определенным образом и облегчает последующий контакт с ним лимфоцитов или передает им информацию об антигене (что, правда, пока еще окончательно не доказано). Лимфоциты отвечают на антиген тем, что после взаимодействия с ним (при участии макрофага) превращаются в бласты (бласттрансформация) — большие пиронино-



фильные клетки, способные к делению и дифференцировке. В результате дифференцировки В-лимфоцит превращается в плазматическую клетку, структура которой свидетельствует об интенсивной секреторной деятельности. Эти клетки синтезируют и выделяют ■ окружающую среду антитела. Т-лимфоциты после бласттрансформации также могут проходить ряд клеточных делений, приводящих к увеличению популяции Т-клеток, реагирующих с антигеном. Они обладают способностью распознавать и разрушать клетки, несущие чужеродные антигены. В связи с этим Т-лимфоциты нередко именуют цитотоксическими лимфоцитами или «киллерами» (*killer* — убийца). Кроме того, Т-лимфоциты могут кооперироваться с В-лимфоцитами и облегчать их дифференцировку в антителообразующие плазматические клетки. Этот эффект называют «хелперным» (*helper* — помощник). Т-лимфоциты также продуцируют растворимые медиаторы (часто суммарно именуемые лимфокинами), которые, как полагают, играют важную роль ■ осуществлении многих клеточных иммунологических феноменов.

Бласттрансформацию лимфоцитов можно вызвать в культуре лимфоцитов из периферической крови при помощи различных митогенов. К ним относятся некоторые белковые вещества растительного происхождения, например фитогемагглютинин, конканавалин А, *Poke weed mitogen*, антитела к иммуноглобулиновым рецепторам лимфоцитов и другие вещества, не только макромолекулярные, но и низкомолекулярные, взаимодействующие с клеточной мембраной. Добавление митогенов к культуре лимфоцитов приводит к значительным биохимическим изменениям в клетке. Активируется синтез РНК, белка и ДНК, отмечается ацетилирование гистонов, фосфорилирование ядерных белков и другие биохимические сдвиги. Воздействия, вызывающие изменение ионной проницаемости плазматической мембраны лимфоцитов, индуцируют или угнетают бласттрансформацию. Реакция бласттрансформации лимфоцитов является чрезвычайно ценной моделью для отбора и изучения механизма действия иммуностропных химических соединений.

Каким образом запускается реакция бласттрансформации и дифференцировки лимфоцитов в организме после антигенного воздействия, пока не ясно. Однако установлено, что в результате этого процесса развиваются клоны лимфоцитов определенной специфичности, несущих на своей поверхности соответствующие рецепторы. На В-лимфоцитах при этом имеются иммуноглобулиновые рецепторы, сходные с циркулирующими антителами. На Т-лимфоцитах также имеются рецепторы, распознающие антиген, но структура их пока мало выяснена.

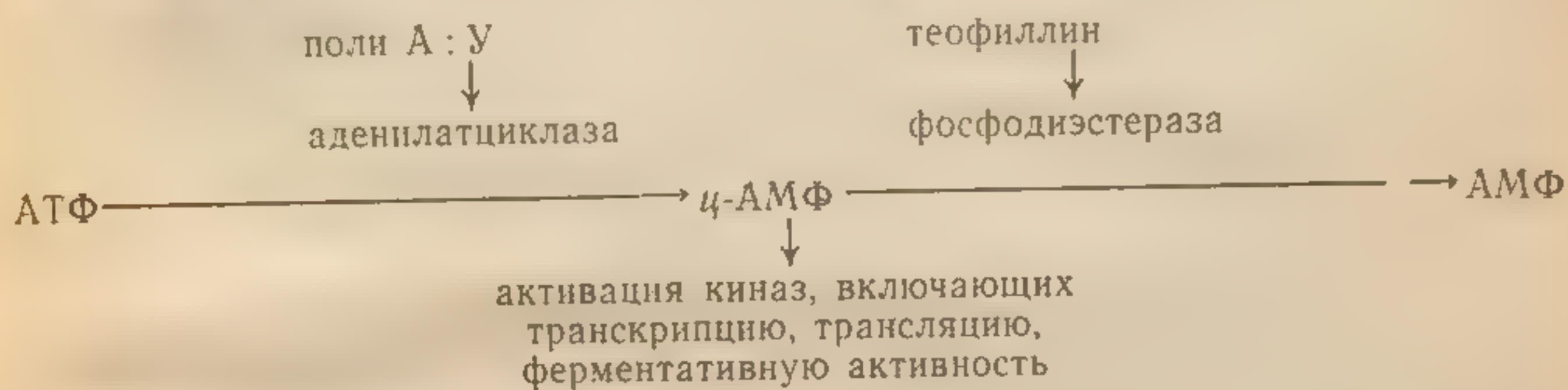
Интересно отметить, что существование рецепторов на клетках, ответственных за иммунитет и осуществляющих распознавание антигена по принципу комплементарности, уже известному в отношении ферментов — конце прошлого века (теория «замка и ключа» Фишера, 1894), было предсказано еще Паулем Эрлихом. Сейчас, примерно через 70 лет, рецепторная теория Эрлиха полностью доказана. Делаются попытки понять, каким образом происходит активация клетки, рецепторы которой связали антигенные макромолекулы. Имеются данные, позволяющие полагать, что рецепторы иммунокомпетентных клеток — интегральные компоненты энзимного комплекса плазматической мембраны. Рецепторы могут играть роль регуляторных субъединиц для ферментов, и прежде всего для аденилатциклазы. Существует так называемая теория «мобильных рецепторов», которая появилась в результате исследования механизма действия холерного токсина на клетку, согласующаяся с недавно выдвинутой концепцией динамической и жидкой природы клеточных мембран (Hubbel Mc Connel, 1969). Есть основания считать, что рецепторы у интактных клеток свободно передвигаются вдоль поверхности мембраны. Однако при взаимодействии антигеном образуется комплекс антиген + антитело (или антиген + рецептор), препятствующий свободному движению рецепторов и каким-то образом активирующий аденилатциклазу. Может быть это происходит путем включения механизма, сходного с тем, который предложен Cuatrecasas, Hollenberg (1975) для объяснения взаимодействия гормонов с рецепторами.

То что при взаимодействии антигенных макромолекул с иммунокомпетентными клетками (макрофагами, лимфоцитами) происходит активация аденилатциклазы и изменяется уровень  $\alpha$ -АМФ и  $\alpha$ -ГМФ в клетке, широко известно.  $\alpha$ -АМФ — универсальный внутриклеточный медиатор физиологических функций самых разнообразных клеток. Показано, что уже вскоре после взаимодействия



полимерных молекул с поверхностью лимфоцитов изменяется содержание циклических нуклеотидов в клетке. Вслед за этим отмечается изменение синтеза нуклеиновых кислот и белка.  $\epsilon$ -АМФ разрушается под влиянием фосфодиэстеразы. Если фармакологическим веществом ингибировать активность этого фермента, то уровень  $\epsilon$ -АМФ в клетке можно повысить и, следовательно, вызвать: 1) угнетение высвобождения гистамина из тучных клеток, вызванного IgE антителами; 2) усиление митогенной трансформации лимфоцитов; цитотоксичности лимфоцитов; связывания Т-лимфоцитами чужеродных эритроцитов (розеткообразование); выделения из клеток лизосомальных ферментов во время фагоцитоза; хемотаксиса; кандидацидальной активности нейтрофилов; индукции гемоксигеназы в макрофагах; выделения из клеток в окружающую среду  $\epsilon$ -АМФ.

Другой путь фармакологической регуляции иммунокомпетентной клетки — действие на фермент аденилатциклазу, катализирующий синтез  $\epsilon$ -АМФ. Две такие возможности отражены на следующей схеме (Вгауп, 1973):



Выявлен целый ряд химических веществ, влияющих на аденилатциклазу или на фосфодиэстеразу. Классическими ингибиторами фосфодиэстеразы считают метилксантины (кофеин, теофиллин, теобромин), а также папаверин. Этими агентами можно стимулировать иммунные ответы. Особенно четко эта стимуляция проявляется, если при этом каким-либо другим химическим агентом активировать аденилатциклазу.

## § 2. Влияние фармакологических веществ на систему иммунитета

**Стимуляторы иммунитета.** Стимуляторы иммунитета привлекают особое внимание не только инфекционистов, но и онкологов, так как показано, что активация системы иммунитета может существенно замедлить развитие опухоли и метастазирование. Кроме того, как правило, лечение опухолевых заболеваний проводится с помощью цитостатических средств и лучевой терапии, угнетающих иммунитет. В связи с этим желательно ослабить повреждающее иммунитет действие указанных средств, не снижая в то же время их противоопухолевой активности. Получены относительно неплохие результаты при лечении химиотерапевтическими средствами или облучением с последующим (в период ремиссии) применением иммуностимуляторов. В основном, для этой цели используют БЦЖ и некоторые другие препараты микробного происхождения. Вакцина БЦЖ также повышает устойчивость к вирусам у новорожденных животных с пониженной функцией макрофагов.

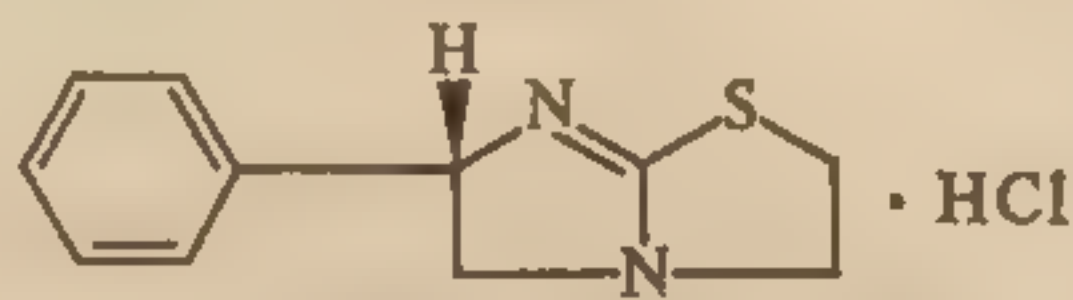
Из различных источников, включая высшие растения, грибы, лишайники, водоросли и бактерии, выделены полисахариды с противоопухолевой активностью. Структура многих из них не установлена. Одним из достаточно хорошо изученных и выделенных в чистом виде является лентинан — линейный гликан с молекулярной массой



1 000 000. Он не обладает прямым цитотоксическим действием на опухолевые клетки, однако вызывает регрессию опухоли при введении в организм (Dennert, Tucker, 1973).

К стимуляторам иммунных реакций относятся активаторы аденилатциклазы иммунокомпетентных клеток — синтетические двухцепочечные полинуклеотиды, например полиадениловая: полиуридиловая кислоты (поли А : У). Хотя эти полимерные препараты чрезвычайно интересны из-за мощного иммуностимулирующего действия, практическое их использование проблематично из-за побочных эффектов. Одно время сополимер полиинозиновая: полицитидиловая кислоты (поли И : Ц), синтетическая двухспиральная РНК, выдвигалась как претендент для клинического применения, так как обладала противоопухолевым действием и являлась мощным интерферогенным агентом с противовирусной активностью. Однако оказалось, что этот полимер вызывает многочисленные токсические эффекты: гиподинамию, анорексию, рвоту, диарею, атаксию, кахексию, геморрагии, инфаркты, васкулиты и др.

В 1971—1972 гг. появились первые сообщения о новом иммуностимуляторе тетрализоле (рацемат) и его левовращающем изомере левамизоле:



Были получены обнадеживающие результаты при лечении солидных опухолей и лейкозов (Repoux, Repoux, 1972; Chirigos et al., 1973). Клинические наблюдения свидетельствуют об эффективности использования левамизола в качестве поддерживающего средства после хирургического лечения карциномы бронхов и радиотерапии рака грудной железы (Amery, 1976).

Левамизол и его анализ «Декарис» нашли применение при лечении ревматоидного артрита. Они вызвали улучшение течения заболевания, восстанавливая при этом у больных кожную реакцию на туберкулин и в меньшей степени на динитрохлорбензол. Первоначально высокий уровень сывороточных иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM) снижался.

Декарис оказался весьма ценным средством для лечения проказы.

Однако наряду с положительными свойствами у левамизола отмечены и недостатки. Левамизол вызывает серьезные побочные явления: агранулоцитоз, гранулоцитопению, поражение нервной системы. Клиницисты считают, что левамизол надо относить не к общестимулирующим иммунитет агентам, а к модуляторам, нормализующим измененные иммунные реакции.

Механизм действия левамизола неясен, но показано, что он усиливает фагоцитоз, значительно увеличивает хемотаксис полиморфоядерных лейкоцитов, взятых от больных с дефектной лейкоцитарной подвижностью. Имеются данные, что левамизол увеличивает внутриклеточный уровень  $\alpha$ -ГМФ в лимфоцитах и нейтрофилах.



Выраженной иммуностимулирующей активностью обладает метилурацил.

Имеется довольно много сведений, что при определенных условиях и дозах иммунодепрессивные препараты (6-меркаптопурин, имуран, 5-бромурацил, 5-фторурацил, 5-фтордезоксифуридин, колхицин, циклофосфан, пуромидин, актиномицин Д, нордопан и др.) вызывают иммуностимулирующее действие.

Мощным стимулятором антителообразования является соматотропный гормон или гормон роста (П. Ф. Здродовский и др., 1963). Но практическое применение СТГ в клинике для целей иммуностимуляции проблематично.

**Иммунодепрессанты.** Фармакологические вещества могут применяться как иммунодепрессанты для создания иммунологической толерантности. Первым препаратом, предложенным для этой цели, был 6-меркаптопурин, ранее уже хорошо изученный с позиций его антибластной активности и широко применявшийся в качестве противолейкозного средства. 6-Меркаптопурин стали применять в клинике как иммунодепрессант при пересадках органов и тканей. Химические иммунодепрессанты прочно вошли в арсенал средств, используемых как в экспериментальных исследованиях, так и в клинике. В экспериментальных системах иммунодепрессанты позволяют проводить кинетический и биохимический анализ и изучать механизмы иммунологических реакций. Все иммунодепрессанты имеют определенный недостаток — их действие на иммунитет не специфично. Однако применение иммунодепрессантов в фундаментальных иммунологических исследованиях основано на том, что многие из них имеют различный, хорошо изученный, молекулярный механизм действия. Среди них имеются специфические ингибиторы синтеза различных компонентов ДНК, ДНК-зависимого синтеза РНК и синтеза белка. Существуют агенты, которые оказывают действие только на определенный этап процесса синтеза.

В клинике иммунодепрессанты применяют при пересадках органов и тканей, а также для лечения аутоиммунных заболеваний и для ослабления воспалительных процессов неясной этиологии.

Для клиницистов фармакологическая иммунодепрессия интересна не только с позиций указанной терапии, но и с точки зрения нежелательных побочных эффектов, наблюдаемых при противоопухолевой химиотерапии. Как правило, иммунодепрессивные препараты одновременно являются и противоопухолевыми средствами. Химиотерапевты и врачи, применяющие те же препараты при трансплантации органов и тканей или при лечении аутоиммунных заболеваний, имеют совершенно противоположные интересы в отношении фармакологической иммунодепрессии, обусловленные объектами их терапии. Трансплантологи стараются отобрать вещества, дозы и схемы введения, которые угнетают в основном клеточный иммунитет и клеточный компонент воспалительной реакции, так как именно они обеспечивают отторжение аллотрансплантатов. Врачи, лечащие больных с аутоиммунными, аллергическими или воспалительными заболеваниями, стремятся ингибировать как клеточный, так



и гуморальный иммунитет. Напротив, из-за того, что опухолевый иммунитет базируется главным образом, на клеточных механизмах защиты хозяина, а антитела могут быть нежелательного блокирующего типа, химиотерапевты стараются отобрать лекарственные препараты, дозы и схемы, как можно меньше влияющие на клеточный иммунитет. Кроме того, конечно, во всех случаях клинического

Таблица 26

| Этапы иммунного ответа                          | Иммунодепрессанты  | Этапы иммунного ответа | Иммунодепрессанты   |
|---|--|------------------------|---|
| Поглощение антигена и его переработка           | Актиномицин Д<br>Кортикостероиды<br>Циклофосфамид<br>Х-облучение                           | Пролиферация           | Актиномицин Д<br>Арабинозилцитозин<br>Метотрексат<br>Винкристин<br>Винбластин |
| Распознавание антигена и клетки-предшественника | Алкилирующие агенты<br>Антилимфоцитарная сыворотка (АЛС)<br>Кортикостероиды<br>Х-облучение | Продукция антител      | Циклофосфамид   |
| Бластогенез                                     | 1-Аспарагиназа<br>Актиномицин Д<br>Циклофосфамид<br>5-Фторурацил<br>6-Меркаптопурин        | Эффекторные реакции    | Стероиды<br>АЛС   |

применения лекарств такого типа клиницисты стараются свести к минимуму нежелательные побочные эффекты, особенно угнетение кроветворения.

Как известно, иммунный ответ на антиген состоит из целого ряда последовательных морфологических, функциональных и биохимических этапов, каждый из которых в принципе может быть подвержен действию фармакологических веществ. Так как вслед за взаимодействием антигена с рецептором иммунокомпетентной клетки активируется синтез РНК, белка и ДНК, то все химические агенты, нарушающие этот синтез, будут изменять и иммунные ответы. В табл. 26 приводится классификация иммунодепрессивных препаратов (Hersh, 1974), в основу которой положен принцип фармакологического воздействия на определенные этапы иммунного ответа.

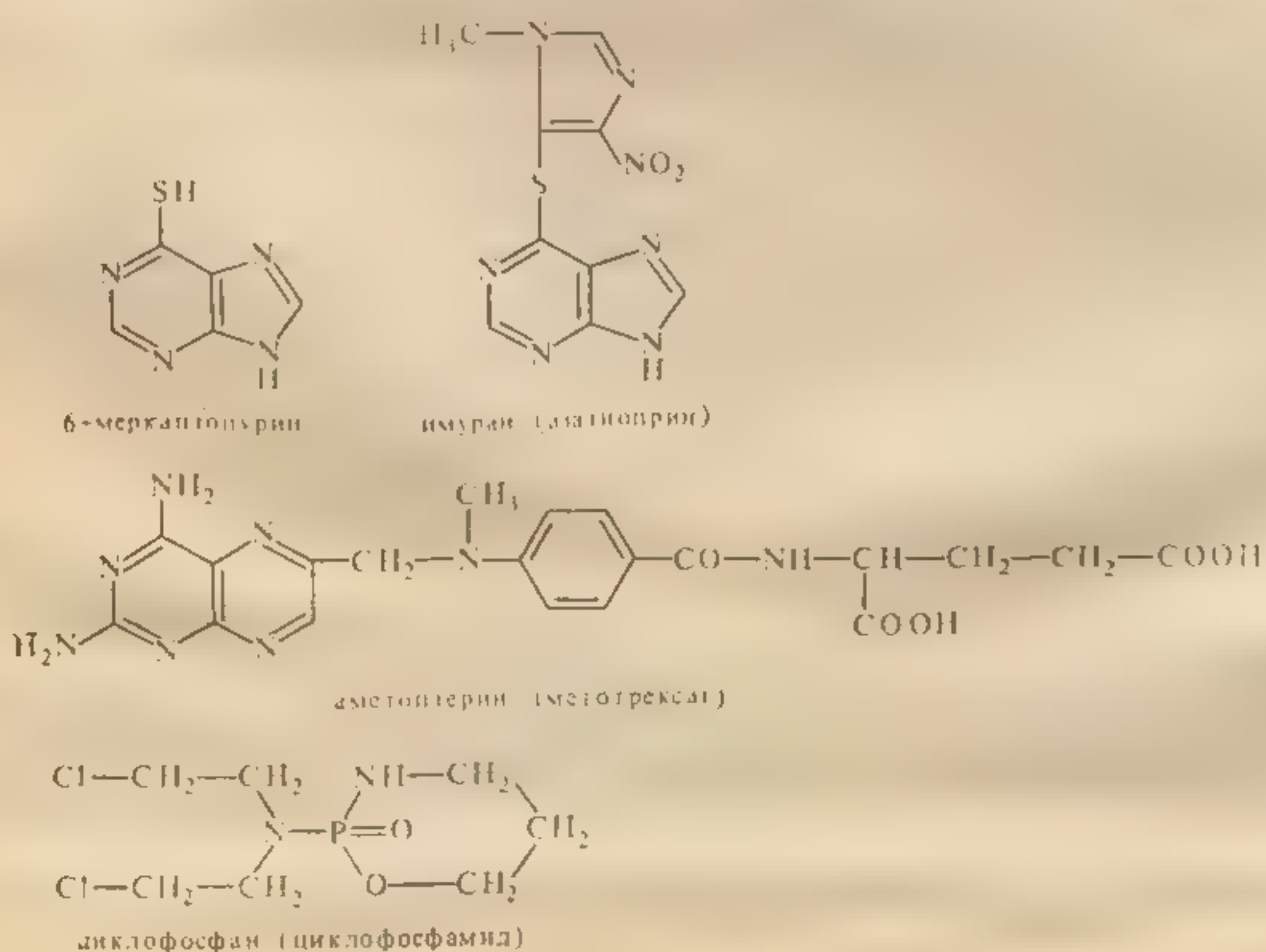
Вначале считали, что этап поглощения антигена и его переработки резистентен к действию химиотерапевтических агентов. Однако, впоследствии в экспериментах на животных было установлено, что фагоцитарная активность макрофагов или их переваривающая способность могут быть чувствительными к определенным веществам, например к кортикостероидам, циклофосфамиду, метотрексату и хлорамбуцилу. Популяция клеток-предшественников (стволовых клеток) угнетается или повреждается некоторыми алкилирующими агентами, которые действуют только при введении животным перед



инъекцией антигена или по крайней мере одновременно с ним. Популяцию предшественников лимфоидных клеток могут также угнетать или повреждать кортикостероиды или антилимфоцитарная сыворотка (АЛС). Пролиферативная фаза иммунного ответа ингибируется некоторыми из лимфолитических агентов, указанных выше, но в большей степени типичными цитостатиками. К ним относятся пуриновые и пиримидиновые антиметаболиты и аналоги фолиевой кислоты. Эти препараты оказывают иммунодепрессивное действие только тогда, когда вводятся во время пролиферативной фазы. Если же их вводят до инъекции антигена или более, чем через неделю после него, то эти антиметаболиты не способны вызывать иммунодепрессию. Из-за того, что они угнетают или убивают только пролиферирующие клетки, мощная иммунодепрессия часто достигается без сильной деструкции большинства лимфоидных клеток. Клетки, не находившиеся в стадии деления, остаются неповрежденными, и при прекращении введения антиметаболитов иммунный ответ может развиваться без дополнительного введения антигена. Тем не менее может иметь место и длительная иммунодепрессия или даже иммунологическая толерантность, если доза и продолжительность применения препаратов большие.

Неспецифическая воспалительная реакция, являющаяся компонентом как гуморальных, так и клеточных иммунологических реакций, также подвержена действию иммунодепрессантов. Они могут уменьшать количество циркулирующих моноцитов вследствие угнетения их пролиферации и поступления в циркуляцию из костного мозга. К таким агентам, угнетающим фазу мононуклеарной экссудации воспалительной реакции, относятся антиметаболиты-цитостатики, кортикостероиды и ингибиторы синтеза белка, такие, как актиномицин Д.

Применяемые в клинике иммунодепрессанты (помимо кортикостероидов) были найдены уже в самых первых исследованиях (6-меркаптопурин и имуран, метотрексат, циклофосфан):





Последующие же многочисленные попытки создать еще более эффективный иммунодепрессант пока ощутимого успеха не принесли. Перечисленные препараты не новы: они ранее широко использовались (и используются сейчас!) как противолейкозные агенты.

Механизм действия большинства иммунодепрессантов сводится к нарушениям процессов метаболизма, которые имеются в самых разнообразных клетках. Отсюда ясно, что такие агенты не могут действовать специфически на иммунокомпетентные клетки, ■ поражают и другие клетки (костный мозг, эпителий кишечника, кожи ■ половых желез и др.). Кортикостероиды также вызывают широкий спектр токсических эффектов, поражая костный мозг, железы внутренней секреции, центральную нервную систему и др. К настоящему времени выяснилось, что реципиенты гораздо чаще погибают от сепсиса, обусловленного иммунодепрессивной терапией, чем от отторжения трансплантата. В общем, иммунодепрессия, не являющаяся специфической, больших перспектив развития не имеет. Нужны принципиально новые подходы регуляции иммунных процессов.

Следует отметить, что если применение цитостатиков при пересадках органов и тканей является жизненной необходимостью, то их использование в ревматологии, дерматологии и некоторых других областях медицины, получившее довольно широкое распространение, может оказаться не только бессмысленным, но и вредным. Обоснование применения иммунодепрессантов у таких больных пока совершенно не убедительно. Не все врачи отдают себе отчет ■ том, что, используя иммунодепрессанты, подрывающие защитные силы организма, они, кроме того, имеют дело с веществами, вызывающими грубые нарушения метаболизма в различных клетках, ■ том числе ■ клетках-предшественниках. А эти свойства веществ в сочетании с их иммунодепрессией могут стать весьма опасными. В ряде публикаций сообщалось, что применение иммунодепрессантов сравнительно часто приводит к возникновению злокачественных опухолей. За исключением нескольких случаев врач буквально ничего не знает о том, что происходит при назначении иммунодепрессивных веществ у больных коллагенозами. Патогенетический механизм этих заболеваний до самого последнего времени, до его расшифровки В. К. Подымовым (1977—1979), трактовался неправильно. Сейчас ясно, что коллагенозы не являются аутоиммунными заболеваниями, поэтому стремление повлиять на болезнь через иммунодепрессию обречено на провал. По мнению Berenbaum (1975), нет ни одного прямого доказательства положительного влияния иммунодепрессии при применении соответствующих веществ для лечения различных заболеваний в клинике. Полагали, что если иммунодепрессант применяется в дозе, способной угнетать иммунные ответы у человека, то и лечебный эффект обусловлен этой иммунодепрессией. Однако, как показано на больных, страдающих красной волчанкой, язвенным колитом, аутоиммунной гемолитической анемией, нефротическим синдромом и некоторыми другими заболеваниями, леченных имураном и метотрексатом, иммунологические эффекты и клини-

Сейчас очевидно, что...  
качественных опухолей...  
Злокачественные опухоли...  
прессии с целью...  
появляются в 100 раз...  
Наиболее часто...  
причем с необычайной...  
ются и опухоли эпите...  
зальноклеточная кар...  
яичка и желудка. К...  
кишечная лейомиома...  
чественных опухолей...  
одного иммунодепр...  
прессанты обладаю...  
наблюдались у боль...  
низолон и антилим...  
лофосфамид (цикл...  
ной появления зло...  
сия как таковая, а...  
однако, следует уч...  
дов активности ук...  
может быть не им...  
ки клеток-предшес...  
цитарномacroфага...  
лаблению развития

§ 3. Не...  
дейс...

Аллергические...  
немедленного (А...  
замедленного — гумор...  
медленного — гумор...  
В этой главе бу...  
фармакологической...  
фармакологической...  
перчувствительност...  
стадии выработки а...  
сов в клетке, индуци...  
+IgE на клеточной...  
ющую среду гистамин...  
действия гистамина



ческое течение не коррелируют между собой. Более того, у некоторых больных, имевших полную или частичную клиническую ремиссию, наблюдалось усиление продукции антител. Недавно было установлено, что временного улучшения течения коллагенозов можно достичь отнюдь не иммунодепрессией, а иммуностимуляцией.

Сейчас очень широко обсуждается вопрос о связи развития злокачественных опухолей с нарушением системы иммунитета.

Злокачественные опухоли у больных, подвергнутых иммунодепрессии с целью подавления реакции отторжения трансплантата, появляются в 100 раз чаще, чем у обычных людей.

Наиболее часто встречаются в таких случаях ретикулосаркомы, причем с необычной интрацеребральной локализацией. Развиваются и опухоли эпителиального происхождения: карцинома губ, базальноклеточная карцинома кожи, рак прямой кишки, яичников, яичка и желудка. Наблюдались также лимфосаркома, желудочно-кишечная лейомиосаркома. Важно отметить, что развитие злокачественных опухолей не было связано с применением какого-либо одного иммунодепрессивного агента. Самые различные иммунодепрессанты обладают таким действием. Злокачественные опухоли наблюдались у больных, получавших азатиоприн (имуран), преднизолон и антилимфоцитарный глобулин (АЛГ), метотрексат, циклофосфамид (циклофосфан). Таким образом, полагают, что причиной появления злокачественных опухолей является иммунодепрессия как таковая, а не конкретное химическое соединение. При этом, однако, следует учитывать, что иммунодепрессия — это один из видов активности указанных средств. Причиной опухолевого роста может быть не иммунодепрессия, а нарушение ими дифференцировки клеток-предшественников. Неспецифическая стимуляция лимфоцитарномикрофагальной системы, напротив, приводит иногда к ослаблению развития опухолей.

### § 3. Некоторые представления о механизме действия противоаллергических средств

Аллергические реакции могут быть двух типов: замедленного и немедленного (А. Д. Адо, 1970). Реакция гиперчувствительности замедленного типа осуществляется клеточными механизмами, а немедленного — гуморальными (антителами).

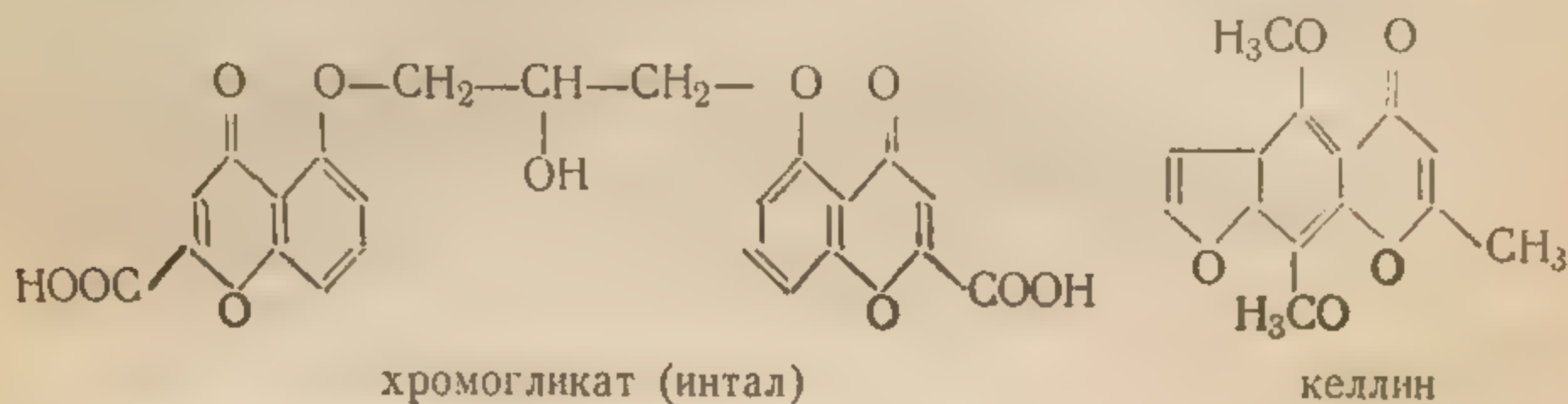
В этой главе будут рассмотрены лишь новые аспекты проблемы фармакологической регуляции аллергических реакций.

Фармакологическими веществами можно подавлять реакции гиперчувствительности немедленного типа на разных их этапах: 1) на стадии выработки антител (IgE) применением иммунодепрессантов (что практически нереально!); 2) на стадии биохимических процессов в клетке, индуцированных образованием комплексов антиген + IgE на клеточной мембране, приводящих к выделению в окружающую среду гистамина и других медиаторов; 3) на стадии взаимодействия гистамина с соответствующими рецепторами на разных



клетках (антигистаминные препараты); 4) на стадии реакции этих клеток на гистамин (сокращение гладких мышц и др.).

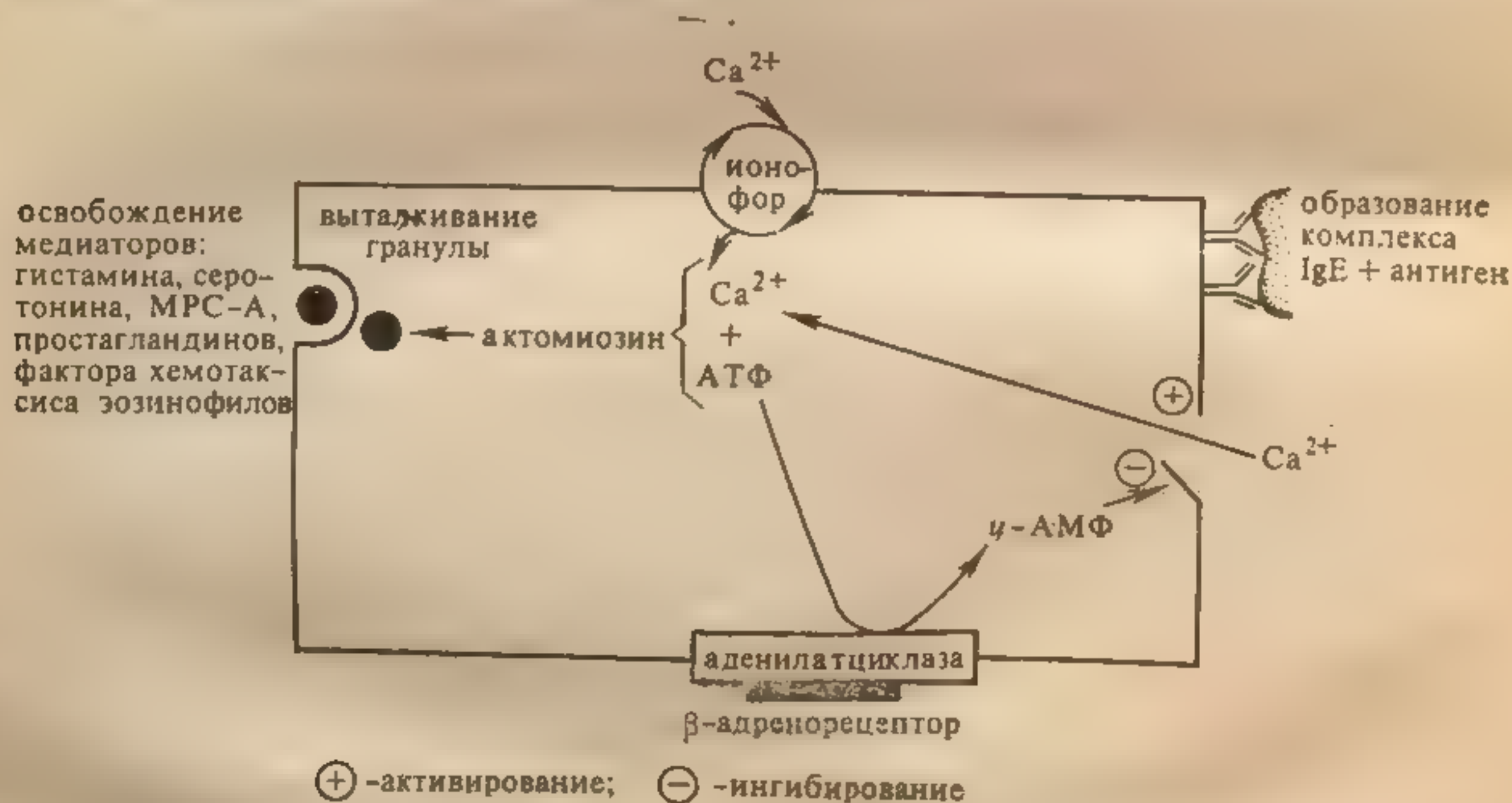
Наиболее интересным препаратом, произведшим, как считают, революцию в лечении бронхиальной астмы, является интал (динатриевая соль хромогликата). Этот препарат был найден в процессе поиска биологически активных соединений типа известного келлина:



Хромогликат — один из нескольких новых лекарств, разрешенных за рубежом для применения в клинике.

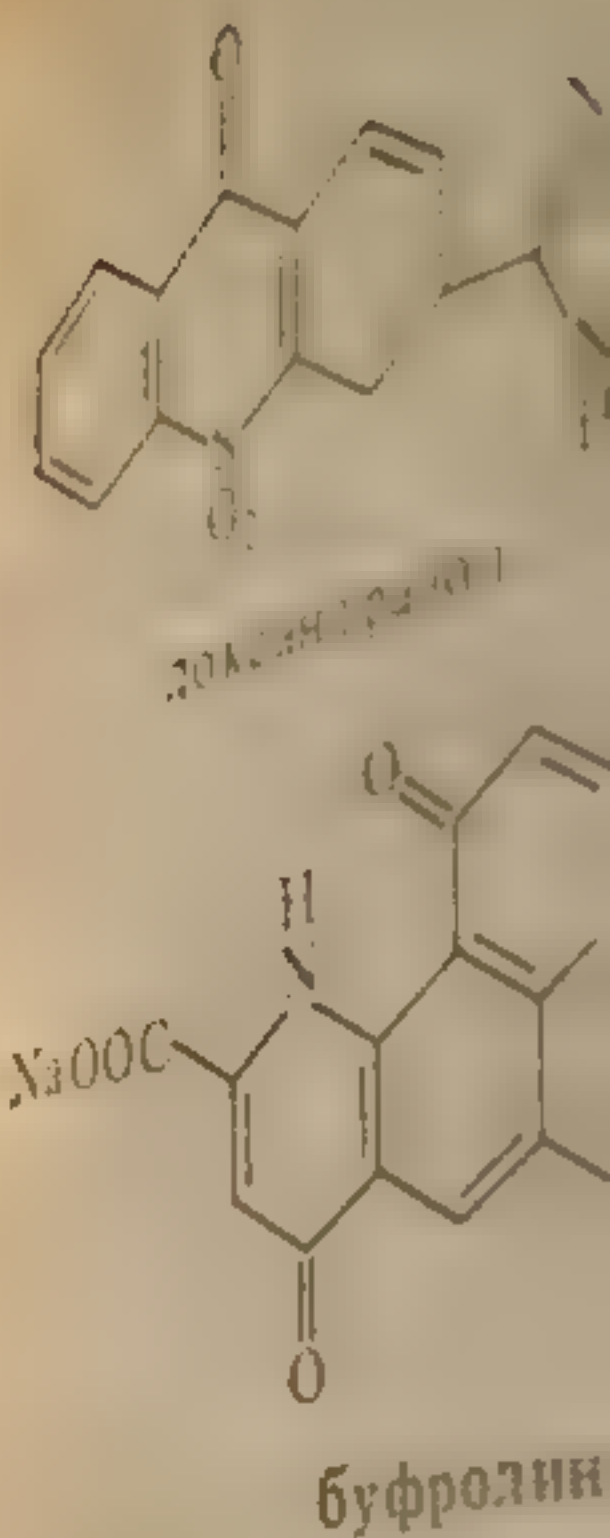
Главнейшие проявления реакций гиперчувствительности немедленного типа обусловлены выделением медиаторов после соединения антигена с IgE антителами, фиксированными на мембране тучных клеток. IgE антитела селективно связываются с тучными клетками (*mast cells*) и базофильными лейкоцитами, но при соединении с антигеном развивается серия событий, ведущих к освобождению из указанных клеток медиаторов, таких, как гистамин, серотонин, медленно реагирующая субстанция анафилаксии (МРС-А), простагландины и предполагаемые медиаторы, например фактор хемотаксиса эозинофилов.

Ниже представлена модель биохимических механизмов в клетке при аллергических реакциях:



Она служит основой для гипотезы механизма действия противоаллергических средств.

Соединения, такие, как интал, доксантразол, АН 7725, буфролин, МЕВ 22948:

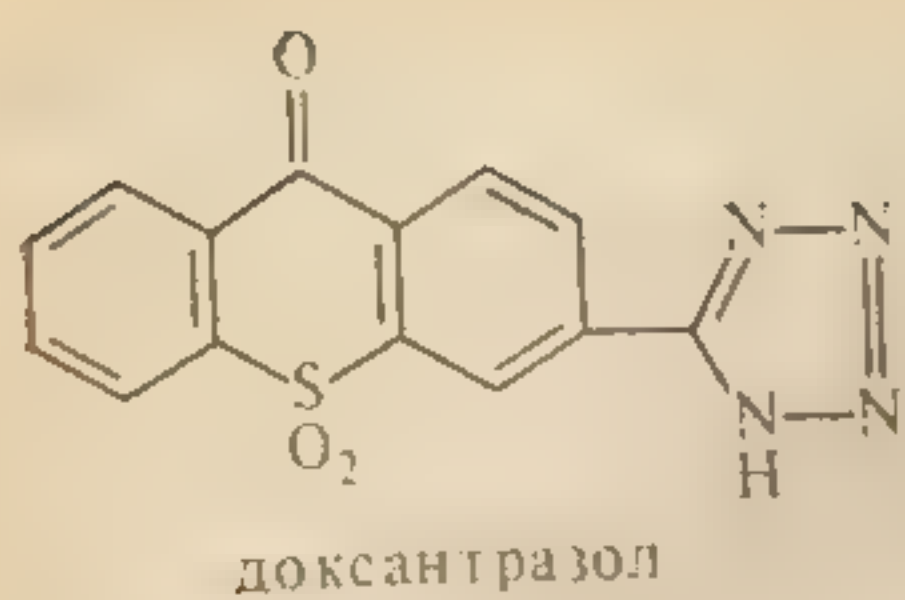


имеют следующие свойства: они ингибируют синтез антител, являются вероятным механизмом действия к сильным антагонистам реакции антиген — антитело. Эти агенты действуют в клетках, которые содержат плазматическую мембрану, выделяющую гистамин.

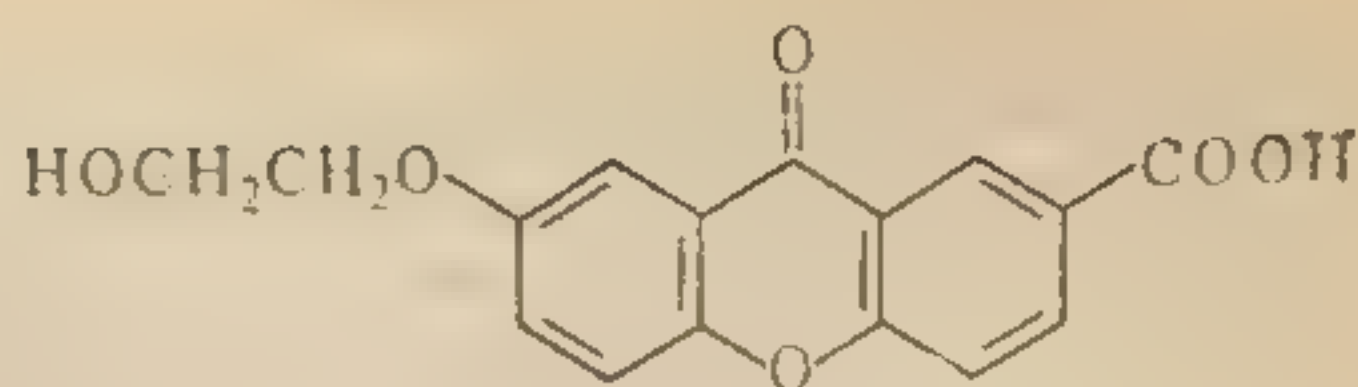
#### § 4. Антитела и их действие

Как известно, низкая температура, к которой относится большинство аллергических реакций, не является ответом. Однако эти реакции являются высокоактивными к ковалентной связи. В начале нашего века Ландштейнером, впервый раз, были описаны такие соединения, которые называются «гаптены», при введении в организм они вызывают образование антител.

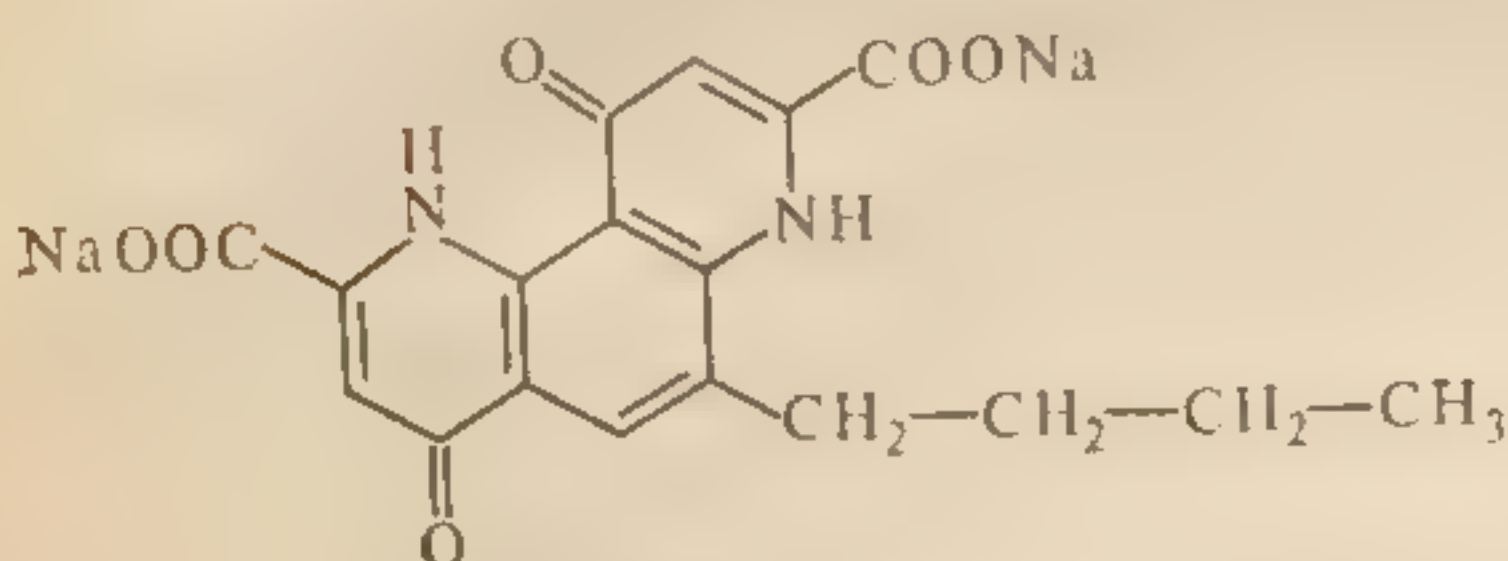




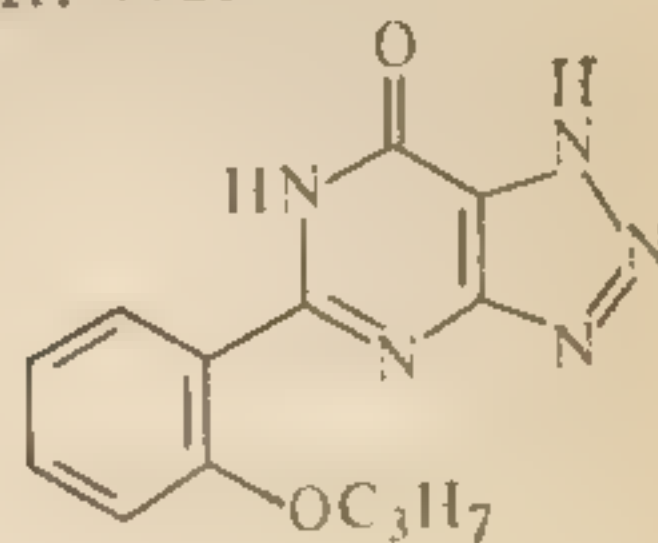
доксантразол



АН 7725



буфролин



МЕВ 22948

имеют следующие свойства. Каждое вещество угнетает анафилактические реакции в пассивно сенсibilизированных тканях, а ингибирование синтеза антител (IgE), следовательно, является маловероятным механизмом действия. Далее, ни одно из них не относится к сильным антагонистам медиаторов гиперчувствительности немедленного типа. Ни хромогликат, ни доксантразол не влияют на реакцию антиген — антитело сами по себе; вероятно, эти антиаллергические агенты действуют на биохимические процессы в тучных клетках, которые сопровождают реакцию антиген — антитело на плазматической мембране. Показано, что эти соединения угнетают выделение гистамина из изолированных тучных клеток *in vitro*.

#### § 4. Антитела к биологически активным молекулам и их использование в фармакологии

Как известно, низкомолекулярные органические соединения, к которым относится большинство лекарственных препаратов, в обычных условиях не являются антигенами (или слабо антигенны): при парентеральном введении они, как правило, не индуцируют иммунный ответ. Однако эти неантигенные соединения можно превратить в достаточно высоко антигенные, если их присоединить к иммуногенному макромолекулярному носителю (например, белку) при помощи ковалентной связи (рис. 26). Такая возможность была открыта в начале нашего века основоположником иммунохимии Карлом Ландштейнером, впервые синтезировавшим и изучившим так называемые искусственные конъюгированные антигены. Входящие в состав таких конъюгированных антигенов низкомолекулярные органические соединения (составляющие антигенные детерминанты) получили название «гаптены». Иными словами, гаптен это то соединение, которое, будучи присоединенным к белку (или другому носителю), при введении в организм индуцирует синтез антител, связывающих данное соединение (как присоединенное к носителю, так и



свободное). Landsteiner (1936, 1946) разработал методические принципы определения антител к низкомолекулярным веществам. Эти работы сыграли колоссальную роль в развитии неинфекционной иммунологии и иммунофармакологии, а также молекулярной биологии.

Интерес к проблеме получения антител к биологически активным соединениям (в том числе фармакологическим) очень высок. Выяснилось, что эти антитела можно использовать для решения це-

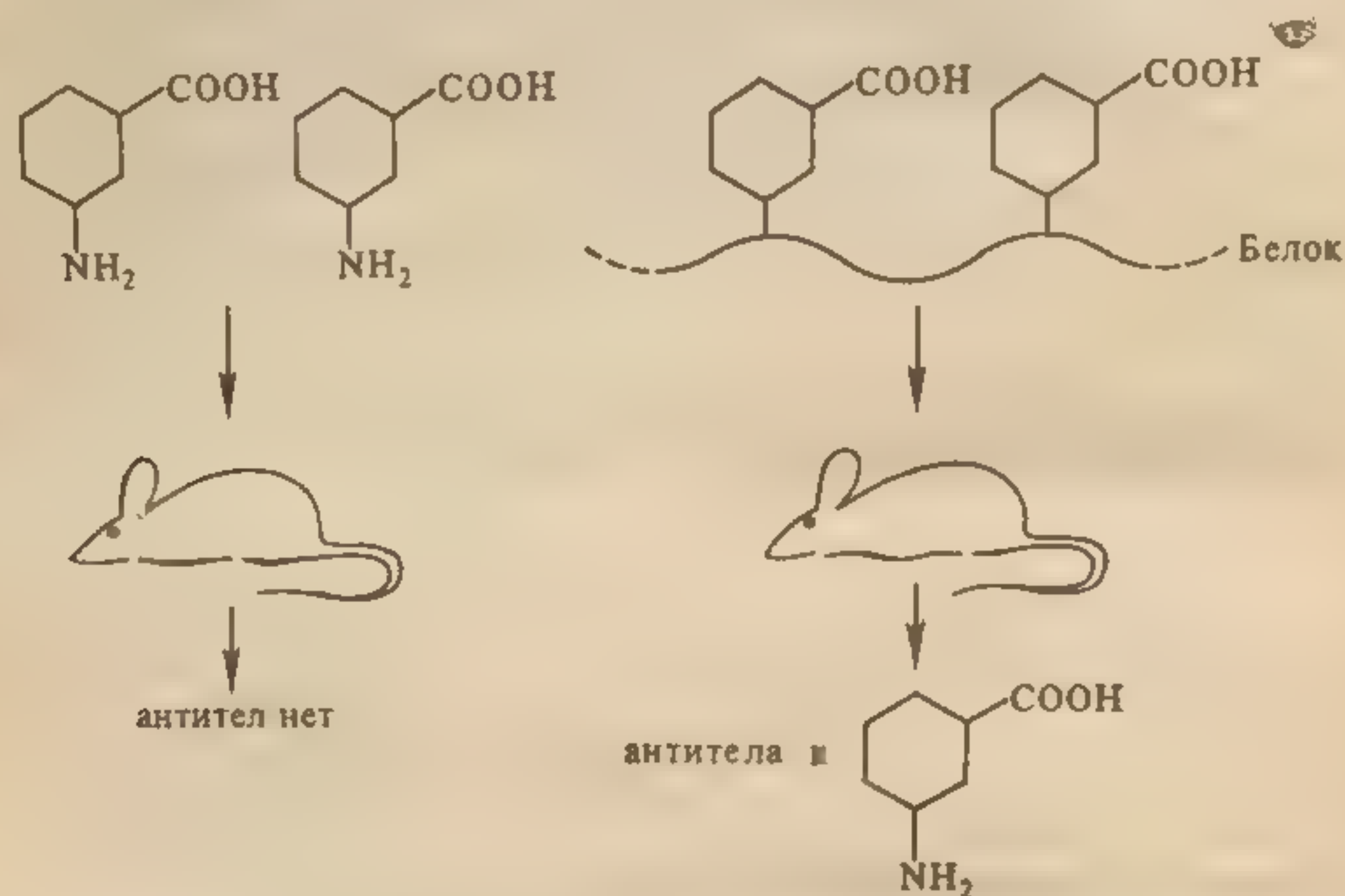


Рис. 26. Общий принцип получения антител к низкомолекулярным химическим соединениям

лого ряда задач медицинского и общебиологического плана: 1) для идентификации низкомолекулярных соединений (органических) в биологических жидкостях при помощи радиоиммунного и некоторых других родственных методов; 2) снижения уровней активных эндогенных веществ в крови и тканях при определенной патологии; 3) создания патологических моделей недостаточности определенных химических веществ (например, витаминов) в организме; 4) защиты и терапии при отравлениях химическими агентами; 5) защиты от действия канцерогенов; 6) выяснения определенных сторон метаболизма и фармакокинетики фармакологических препаратов; 7) изучения механизмов действия определенных лекарственных средств некоторых физиологических реакций; 8) получения толерантности к наркотикам и лечения наркоманий; 9) пролонгирования нахождения в крови того или иного фармакологического агента в виде диссоциирующего комплекса с антителом; 10) изучения конформационных различий родственных химических соединений; 11) определения локализации химических соединений в биологических структурах, например, для картирования локализации определенных нуклеозидов в рибосомах; 12) серологического определения повреждения оснований ДНК и радиационных повреждений хромосом; 13) устранения аллергической реакции на низкомолекулярные фармакологические вещества; 14) изучения взаимодей-

Основная литература  
антител к фармакологическим соединениям для применения в иммунологии. Метод радиоиммунного контроля уровня веществ (например, метку в организм, изучать данный метод широко используется наркотиками. Метод радиоиммунного и другие родственные методы эндокринологии и других тальной медицины, в которых измерения низких концентраций. Эти методы включают в себя подход, уже используемый, из которых крайне труд-

Бернет Ф. Клеточная иммунология. Говалло В. И. Иммунология. Москва, 1977.  
Грунтенко Е. В. Иммунология. Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1977.  
Ионов И. Д. Хим. фармакология. Ковалев И. Е. Хим. фармакология. Ковалев И. Е. Хим. фармакология. Ковалев И. Е., Лавренко И. Е., Полевая И. Е., Сергеев И. Е., Петров Р. В. Вестник Академии наук СССР, 1972, № 10, с. 7-10.  
Казан. ун-та, 1972.  
Пирозян Л. А., Ковалев И. Е., Сидорова Е. В. Успехи биохимии, 1974, т. 10, с. 1169-1170.  
Atlas S., Vesell E., Nebeker R. J., Folleiant B., Berkowitz B., Spector A. I., Clementi F., Bevan S., Heinemann R. 1977, p. 438-439.



ствия гормонов и других биологически активных веществ с соответствующими рецепторами; выявление рецепторов и их выделение.

Имеются, по-видимому, и другие возможности применения антител к биологически активным соединениям в молекулярной фармакологии, биологии и медицине.

Основная литература по этой проблеме касается методов получения антител к фармакологическим препаратам и изучения их специфичности для применения в радиоиммунном методе. Этот метод получил широкое применение за рубежом в клинической фармакологии. Метод радиоиммунного анализа позволяет быстро и просто контролировать уровень лекарственных препаратов или эндогенных веществ (например, гормонов) в крови больного и, не вводя метку в организм, изучать их фармакокинетику и метаболизм. Указанный метод широко используют и для выявления лиц, злоупотребляющих наркотиками.

Метод радиоиммунного анализа (*radioimmunoassay*) и некоторые другие родственные методы оказали мощное влияние на развитие эндокринологии и других областей клинической и экспериментальной медицины, в которых предусматриваются очень точные измерения низких концентраций биологически активных соединений. Эти методы включают в себя высокочувствительный аналитический подход, уже используемый для определения более 200 веществ, многие из которых крайне трудно исследовать другими методами.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Бернет Ф. Клеточная иммунология. — М.: Мир, 1971.
- Говалло В. И. Иммуитет к трансплантатам и опухолям. — Киев: Вища школа, 1977.
- Груntenко Е. В. Иммуитет и возникновение злокачественных опухолей. — Новосибирск: Наука, Сибирское отд., 1977.
- Ионов И. Д. Хим.-фармац. ж., 1978, № 3, с. 33—43.
- Ковалев И. Е. Хим.-фармац. ж., 1978, № 9, с. 3—14.
- Ковалев И. Е. Хим.-фармац. ж., 1977, № 12, с. 3—14.
- Ковалев И. Е., Лаврецкая Э. Ф., Меткалова С. Е. и др. Хим.-фармац. ж., 1977, № 6, с. 7—10.
- Ковалев И. Е., Полевая О. Ю., Данилова Н. П. и др. Хим.-фармац. ж., 1976, 1976, № 10, с. 7—10.
- Ковалев И. Е., Сергеев П. В. Введение в иммунофармакологию. Изд-во Казан. ун-та, 1972.
- Петров Р. В. Вестник АМН СССР, 1973, № 1, с. 81—90.
- Пирузян Л. А., Ковалев И. Е., Лаврецкая Э. Ф. и др. Действие физиологически активных соединений на биологические мембраны. — М.: Наука, 1974.
- Сидорова Е. В. Усп. совр. биол., 1977, т. 84, вып. 3(6), с. 410—428.
- Утешев Б. С., Бабичев В. А. Ингибиторы биосинтеза антител. — М.: Медицина, 1974.
- Atlas S., Vesell E., Nebert D. Cancer res., 1976, v. 36, N 12, p. 4619—4630.
- Batchelor J., Follefant M., Garland L. et al. Lancet, 1975, v. 1, N 7917, p. 1169—1170.
- Berkowitz B., Spector S. Science, 1972, v. 178, N 4067, p. 1290—1292.
- Berti F., Clementi F., Conti-Tronco B. et al. Brit. J. Pharmacol., 1976, v. 57, N 1, p. 17—22.
- Bevan S., Heinemann S., Lennon V. et al. Nature, 1976, v. 260, N 5550, p. 438—439.



- Butler V., Beiser S. Adv. in Immunol., 1973, v. 17, Acad. Press., p. 225—310.  
 Castaneda E., Liao Sh. J. Biol. chem., 1975, v. 250, N 3, p. 883—888.  
 Chirigos M., Pearson J., Pryor J. Cancer Res., 1973, v. 33, p. 2615—2618.  
 Dennert G., Tucker D. J. Nat. Cancer Inst., 1973, v. 51, N 5, p. 1727—1729.  
 De Petris S., Raff M. Nature New Biol., 1973, v. 241, N 113, p. 257—259.  
 Elfman L., Elmquist D., Heilbonn E. et al. VI Internat. Congr. Pharmacol., Helsinki, Finland, 1975, abstracts, p. 620.  
 Foreman J., Garland L. Brit. Med. J., 1976, v. 1, N 6013, p. 820—821.  
 Foreman J., Mongar J., Gomperts B. et al. Biochem. Pharmacol., 1975, v. 24, N 4, p. 538—540.  
 Fryel., Edidin M. J. Cell. sci., 1970, v. 7, N 2, p. 319—333.  
 Fullarton J., Martin L., Vardey C. Internat. Arch. Allergy a. Appl. Immunology, 1973, v. 45, p. 84—86.  
 Garland L., Mongar J. International Arch. Allergy a. Appl. Immunol., 1976, v. 50, p. 27—42.  
 Gemsa D., Steggemann L., Menzel J., Till G. J. Immunol., 1975, v. 114, N 4, p. 1422—1424.  
 Herndon B., Baeder D., Ringle D. Clin. exp. immunol., 1976, v. 23, p. 367.  
 Koopman W., Orange R., Austen K. J. Immunol., 1970, v. 105, p. 1096—1102.  
 Kovalev I., Polevaja O. 7 Intern. congress of pharmacol. Paris, 1978, Abstract 2258.  
 Kovalev I., Polevaja O., Shaidrov V. et al. VI International congress of Pharmacology. Helsinki, Finland, 1975, Abstracts, p. 495.  
 Kovalev I., Rubtsova E., Polevaya O. et al. X Internat. Congress of Biochemistry. Hamburg, 1976, Abstracts, p. 193.  
 Mathe G. Adv. Cancer Res., 1971, v. 14, p. 1.  
 Nebert D., Robinson J., Niwa A. et al. J. Cellular Physiology, 1975, v. 85, N 2, suppl. I to vol. 85, p. 393.  
 Nettesheim P., Hammons A. Proc. soc. exp. biol. med., 1970, v. 133, p. 696—701.  
 O'Brien R., Boublik M., Spector S. J. Pharmacol. a. Experim. Therap., 1975, v. 194, N 1, p. 145—153.  
 O'Collagan J., Holtzman S. J. Pharmacol. a. Exp. Ther., 1976, v. 197, N 3, p. 533—544.  
 Playfair J., Hurn B., Schulster D. Brit. Med. Bull., 1974, v. 30, N 1, p. 24—31.  
 Rosenthal M., Begany A., Dervinis A. et al. J. Pharmacol. a. Exp. Therap., 1976, v. 197, N 3, p. 725—733.  
 Saba T. Arch. Intern. Med., 1970, v. 126, N 6, p. 1031—1052.  
 Soyka L., Hunt W., Knight S. et al. Cancer Res., 1976, v. 36, N 12, p. 4425—4428.  
 Stevens V., Crystle C. Obstet. a. Gynecol., 1973, v. 42, N 4, p. 485—495.  
 Taylor W., Francis D., Sheldon D., et al. Internat. Archives of Allergy a. Appl. Immunol., 1974, v. 46, p. 104—120.  
 Thomas P., Kouri R., Hutton J. Biochem. Genet., 1972, v. 6, p. 157—168.  
 Voss E., Berger B. Psychopharmacologia, 1972, v. 26, N 2, p. 140—145.  
 Wara D., Goldstein A., Doyle N., Ammann A. N. Engl. J. Med., 1975, v. 242, p. 70.

Азиды 19  
 Азиды 128  
 — неацетилированные 168  
 Азидоэстеразы 128  
 — взаимодействие с β-адренорецепторами 129  
 Азиды 59  
 Азидоэстеразы 140  
 Адренергические вещества 12  
 Адреналин 74, 123 и сл.  
 Адреналон 141  
 Адренолитики 142  
 Адреномиметики 142  
 Адренорецепторы 128  
 — конформационные изменения 128  
 α-адренорецепторы 128  
 α-адренорецепторы 128  
 β-адренорецепторы 128  
 β-адренорецепторы 128  
 γ-адренорецепторы 128  
 Адренорецепция 125  
 Адсорбция 33  
 Азагуанин 291  
 Азауриал 291  
 Азафен 262  
 Азирдиний 314  
 АКГГ 229  
 Актиномицин D 229  
 Активаторы 39  
 Алкилфосфатные соединения 181  
 Алкалоиды спорыньи 181  
 Алкоголь 177  
 Алкогольдегидрогеназа 19  
 Алфепрол 127, 144  
 Альбумин сывороточный 7  
 — ацетилирование 82  
 — конформационные изменения 84  
 — структура 82  
 — транспортная функция 15  
 Альдегиддегидрогеназа 15  
 Амантадин 145  
 Аминитин 301  
 Амидопирин 291  
 Амизил 264  
 Амифал 63  
 Амизин 135, 145, 203  
 α-Аминопропионовая кислота  
 Аминоксидная кислота  
 Аминоксидная кислота  
 Амины  
 — вторичные 72  
 — третичные 72



## ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Авидин 19  
 Агонисты 108  
   — неполные 168  
 Аденилатциклаза 129  
   — взаимодействие с  $\beta$ -адренорецеп-  
   торами 129  
   — сопряжение с  $G_2$ -рецепторами 162  
 Аденин 59  
 Аденозинметионин 140  
 Адренергические вещества 123  
 Адреналин 74, 123 и сл.  
 Адреналон 141  
 Аденолитики 142  
 Аденомиметики 142  
 Адренорецепторы 128  
   — конформационные изменения 128  
    $\alpha_1$ -адренорецепторы 128  
    $\alpha_2$ -адренорецепторы 128  
    $\beta_1$ -адренорецепторы 128  
    $\beta_2$ -адренорецепторы 128  
    $\gamma$ -адренорецепторы 128  
 Адренорецепция 125  
 Адсорбция 33  
 Азагуанин 291  
 Азаурацил 291  
 Азафен 262  
 Азиридиний 314  
 АКТИГ 229  
 Актиномицин D 229  
 Активаторы 39  
 Алифатические соединения 69  
 Алкалоиды спорыньи 181  
 Алкоголь 177  
 Алкогольдегидрогеназа 19  
 Алфепрол 127, 144  
 Альбумин сывороточный 78  
   — ацелирование 82  
   — конформационные изменения 83,  
   84  
   — структура 82  
   — транспортная функция 78, 82 и сл.  
 Альдегиддегидрогеназа 155  
 Альдостерон 219  
 Амантадин 145  
 Аманитин 301  
 Аминоптерин 291  
 Амидопирин 68, 203  
 Амизил 264  
 Амитал 63  
 Аминазин 135, 145, 203  
 $\epsilon$ -Аминокапроновая кислота 206  
 $\gamma$ -Аминомасляная кислота 279  
 Аминооксидаза микросомальная 74  
 Аминометилбензойная кислота 206  
 Амины  
   — вторичные 72  
   — третичные 72  
 Амитриптилин 262  
 Аммиак 57  
 Амобарбитал 68  
 АМФ циклический 152, 231, 217  
 Амфетамин 74  
 Аналоги пиримидинов 291  
   — пуринов 291  
 Анальгетики наркотические 214  
 Анаприлин 127, 144  
 Андрогены 219, 227  
 Анестетики местные 48  
 Ангиотензин 139  
 Андрогены 227  
 Анилин 68  
 Антагонисты 168  
   — аминокислот 291  
   — глутамина 291  
   —  $G_1$ -рецепторов 165 и сл.  
   — влияние на секрецию гормонов  
   163  
   —  $G_2$ -рецепторов 167 и сл.  
   — конкурентные 180  
   — неконкурентные 180  
   — неравновесные 180  
   — серотонина 180  
 Антибиотики 291 и сл.  
 Антигены 316  
 Антигистаминные средства 165 и сл.  
 Антидепрессанты 261  
   — трициклические 136, 141  
 Антикоагулянты 90  
 Антилимфоцитарная сыворотка 323  
 Антиминин А 63  
 Антиоксиданты 43, 44  
   — природные 43  
   — синтетические 43  
 Антитела 317  
 Антрамицин 300  
 Апоморфин 140, 145, 269  
 Арабинозилцитозин 323  
 Арахидоновая кислота 201, 211  
 Арилуглеводородбензпиренгидрок-  
   силаза 315  
 Ароматические соединения 70  
 Атропин 105, 120  
 АТ-Фаза 239 и сл.  
 Аурамицин 43  
 Ацетанилид 71  
 Ацетил- $\epsilon$ -капроновая кислота 206  
 Ацетилсалициловая кислота 202  
 Ацетилхолин 112  
   — конформация 118 и сл.  
 Ацетилхолинэстераза 100  
 Ацетокумарин 85  
 Барбамил 307  
 Барбитураты 69, 70  
 Барий 180  
 Белки  
   — плазмы 78  
   — — рецепторы 101



— — — структура вторичная 101  
 — — — первичная 101  
 — — — третичная 101  
 — — — четвертичная 101  
 — фосфорилирование 395  
 — хроматина 98  
 — связывание лекарств 80 и сл.  
 Белково-пептидные гормоны 229 и сл.

Белок-андрогенсвязывающий 227

— Y90

— Z90

Бенактизил 261

Бензин гаунидин 187

Бензпирен 71

Бензтропин 136

Биотин 19

Бикукулин 282

Биливердин 44

Билирубин 90

Биомицин 293

Бласттрансформация 317

Блеомицин 293

Брадикинин 192 и сл.

Бретилий 138

Бромсульфален 86, 89

5-Бромурацил 320

$\alpha$ -Бунгаротоксин 115

Бутирилхолинэстераза 264

Бутоксамин 127

Буримамид 157, 167 и сл.

Буферная емкость 45

Буферная система 45

Буфотенин 172

Буфролин 165, 326

Вазопрессин 233

Варфарин 90

Вещества

— генотропные 290

— психотропные 261

— рентгеноконтрастные 84, 86

— цитотоксические 153

Вещество 48/80 152, 153

Взаимодействия гидрофобные 79

Винкристин 322

Вискен 199, 204

Витамины 81

Вода 46

— связанная 47

— структура 46, 105

— участие в действии лекарств 106

Водород 63

Водородная связь 59 и сл.

Ганглиозиды 179

$\beta$ -Галактоза 236

$\beta$ -Галактозидпермеаза 236

Галактокиназа 238

Галоперидол 135, 136, 261

Гамибетил 281

ГАМК 279

Гаммалон 281

Гаптоглобин 81

Гармин 187

Гедамицин 300

Гексаметоний 123

Гексенал 307

Гексобарбитал 68, 70

Гематоэнцефалический барьер 7

Гемоглобин 118

Гемоликсин 81

Гепарин 150

Геронин 72

Гестагены 219

Гиалуроновая кислота 149

Гибридизация 50

Гидразиды 187

Гидрокортизон 202, 222

Гидроксиамин 148

Гидроксילирование 68 и сл.

— алифатических соединений 69

— ароматических соединений 70

Гидроксония ион 44

Гипостамин 165

Гиппуровая кислота 66

Гистамин

— биосинтез 147

— влияние на гладкую мускулатуру 161 и сл.

— — — иммунные реакции 164

— — — нервную систему 163

— — — секрецию соляной кислоты 163

— — — сердечно-сосудистую систему 160

— высвобождение 151

— депонирование 148

— метаболизм 153

— инактивация 153

— окислительное дезаминирование 74

— связывание с глобулинами 81

— — — альбумином 156

— — — пептидом H 156

— фармакологические эффекты 160

— физико-химические свойства 146

Гистаминаза 155

Гистамин-N-метилтрансфераза 155

Гистаминвысвобождающие вещества 152

Гистаминопексия 156

Гистидаза 147

Гистидин 147

Гистидиндекарбоксилаза 147

Гистогематические барьеры 7

Гистоглобулин 165

Гистоны 285

Глицерофосфатдегидрогеназа 39

Глицин 66

Глобулины сыворотки 80

Глутатин 24

Глутамин 104



Глюкагон 242  
Глюкозилтрансфераза 236  
Глюкокортикоиды 44  
Гордокс 198  
Гормоны  
— белково-пептидные, 81, 228 и сл.  
— взаимодействие с медиаторами 109  
— стероидные 77, 218 и сл.  
— структура 219  
— физиологические эффекты 219  
— механизм действия 222  
Грамин 181, 187  
График Лайнуивера—Берка 38  
Гризеофульвин 293  
Гуанетидин 137  
Гуанин 59

Дауномицин 291  
Дегидрогеназа 63  
Деалкилирование окислительное 71  
Дезаминирование 73  
Дезипрамин 136  
Дезоксигуанин 292  
Дезоксикортикостерон 219  
Декарис 320  
Декстран 152  
Дексаметазон 223  
Декстрога 48  
Дексторфан 250  
Деполимеризаторы ДНК 291  
Депакин 284  
Депоткалликреин 198  
Десенситизация 159  
Диазолин 166  
Диамид 183  
Диаминоксидаза 155  
Дибенамин 142, 183  
Дибензиллин 183  
Дибутрил циклический АМФ 152  
Дигидроморфин 186, 245  
Дигидротестостерон 227  
Дигидроэрготамин 142  
Дикаин 189  
Дикатионы 120  
— зависимость действия от гибкости 122  
Димедрол 166  
2,4-диштрофенол 135  
Диоксигеназа 211  
Дипразин 166  
Дипренорфин 245  
Дистамицин А 295  
Дисульфирам 133  
3',6'-дихлорфлуран 86  
Диэтиламид D-лизергиновой кислоты 181  
ДНК 11  
ДНК-лигаза 294  
ДНК-полимераза 294  
Доксантрозол 326  
ДОФА 147

L-ДОФА-декарбоксилаза 133  
Дофамин 124 и сл., 265  
Дофамин-β-оксидаза 133  
Дофаминолитики 145  
Дофаминомиметики 145  
Дроперидол 144

Закон (ы)  
— Больцмана 111  
— действия масс 23, 79  
— термодинамики 16  
— Фика 26, 27

Ибупрофен 85  
Изадрин 130  
Изонназид 293  
Изоникотиновая кислота 148  
Изопротеренол 316  
Изорецепторы 108 и сл.  
Имидазолуксусная кислота 155  
Импипрамин 73  
Иммунитет 305 и сл.  
— клеточный 308  
— гуморальный 308  
Иммуноглобулины 317  
— IgG 317  
— IgE 317  
— IgM 317  
Иммунология 305  
Иммунодепрессанты 304  
Иммуностимуляторы 304  
Иммунофармакология 304  
Имуран 323  
Ингибиторы биосинтеза нуклеопро-  
теидов 291  
Индексы  
— структурные 52  
— свободной валентности 53  
Индокарб 183, 187  
Индопан 261  
Индукция ферментативная 76, 312  
Инженерия фармакологическая 112  
Инициация 299  
Инсектициды 76  
Инсулин 81, 235  
Интеркаляторы 291  
Интерферон 308  
Интал 165  
Интеграл кулоновский 59  
— резонансный 59  
Иофеноксовая кислота 85  
Ипразид 261  
Иредамин А 293

Казугамицин 293  
Каллидин 193  
Калликреин 192 и сл.  
Кальций  
— роль в действии серотонина 179  
— роль в действии белково-пептид-  
ных гормонов 233



Кальцитонин 233  
 Канамидин 293  
 Канцерогены 76, 90  
 Карбидин 261  
 Карбоксипептидаза 100  
 $\beta$ -Карболин 182  
 $\gamma$ -Карболин 182  
 Каталаза 38  
 Катаlepsия 260  
 Катализ 35 и сл.  
 Катализаторы-ферменты 37  
 Катехоламины 123 и сл.  
 — биосинтез 132  
 — депонирование 134  
 — нейрональный захват 135  
 — экстранейрональный захват 135  
 Катехол-О-метилтрансфераза 137, 140  
 Келлин 326  
 Киназы 193  
 Кининоген 193  
 Кинины 192 и сл.  
 Кислород 42  
 Кислородоксиредуктаза 211  
 Клетки тучные 149  
 — взаимодействие с гистамином 164  
 Клозапин 269  
 Клонидин 159  
 Кобальт 38  
 Кодеин 72, 73, 203  
 Кокаин 135, 140  
 Коллаген 118  
 Коллагеназа 325  
 Колхицин 73  
 Компартиментализация                      внутрикле-  
     точная 96  
 Комплексы с переносом заряда 58  
 Комплементарность 98  
 Конканавалин А 318  
 Константа  
 — ассоциации 79  
 — диссоциации 64, 79  
 — Михаэлиса 64 и сл., 96  
 — равновесия 28  
 — скорости ассоциации 79  
 — — диссоциации 79  
 — — реакции 23  
 Кордиценин 291  
 Коричная кислота производные 121  
 Кортикостероиды 222  
 Кортикостерон 136  
 Кортизол 202  
 Кофеин 261  
 Красители органические 88  
  
**Л**  
 Лактатдегидрогеназа 19  
 Ларгактил 261  
 Лактоза 237  
 ЛГ 229  
 Левамизол 320

Левомепромазин 261  
 Леворфанол 245  
 Лей-энкефалин 254  
 Лекарства  
 — активная экскреция 88  
 — влияние на нуклеиновые кислоты 11  
 — — — биосинтез белка 12  
 — — — плазматические мембраны 12  
 — связывание с белками 78  
 — транслокация в клетку 97  
 — экскреция 91  
 Лентинал 319  
 Лецитин 107  
 Лигноканн 186  
 Лизенил 191  
 Лизергиновая кислота 164  
 Лизосомы 13  
 Лизоцим 308  
 Лимонная кислота 44  
 Лимфокины 318  
 Лимфоциты 308  
 Линкомицин 293  
 Липаза 236  
 Липиды 43  
 Липоевая кислота 211  
 Липолиз 236  
 Литий 262  
 ЛТГ 229

Магний 59  
Мажептил 261  
Макрофаги 308  
Марганец 59  
Мезатон 127  
Мексамин 182  
Мелатонин 173  
Мембраны проникновение лекарств  
179  
— плазматические 241  
— синаптические 251  
— эндоплазматического ретикулума  
76

Мепазин 261  
Мепирамин 155  
Меперидин 72  
Мепробамат 75, 261  
Меридил 261  
6-Меркаптопурин 321  
Меркаптоэтанол 103  
Мескалин 73  
Метаболизм ксенобиотиков 76  
Метадон 72  
Метамизил 264  
Метанефрин 136  
Метапирин 68  
Метараминол 136  
Метеразин 261  
Метнамид 167 и сл.  
Метиланилин 67 и сл.  
Метиламфетамин 72, 74

Мет-ДОФА 319  
Метамфетамин 187  
Метиленовый синий 181  
Метилглютамин 421  
Метилглутамион 76, 83  
Метилхлорид 186  
Метисергид 186  
Метотрекат 322  
Методы (вы)  
— валентных связей 49  
— исследования рецепто  
— — радикалов 41  
— — строения ДНК 28  
— молекулярных орбита  
— Хюккеля 52  
Мет-энкефалин 254  
Миансерин 183  
Миелоциты 319  
Микросомы 13  
Милеран 291  
Миорелаксанты 121 и с.  
Мирацил А 219  
Митомицин 292, 293  
Митохондрии 12  
— дыхательная цепь 63  
— окислительное фосфо  
Митрамицин 293  
Моноаминоксидаза 130  
Морфин 72, 73, 186, 244  
Моноацетилпутресцин 2  
Морфинорецепторы 247  
— взаимодействие с  
— анальгетиками 246  
— идентификация 247  
— локализация 249  
MSG 229  
Мукарин 114  
Муслимол 283  
Мутации 289, 280  
Мышьяк 103

**НАДФН-цитохром-Р-450**  
67, 76, 139  
Налоксон 245, 246  
Налорфин 245, 246  
Налтрексон 245  
Натрий 252  
Нейраминидаза 179  
Нейролептики 261  
Неокариостатин 295  
Неомицин 293  
Ниазамид 134  
Никотин 114  
Никотинамиддинуклеоти  
Новобиоцин 293  
Норкодеин 73  
Новокаин 186  
Новогаламид 186  
Новоламицин 300  
Нозипан 261



$\alpha$ -Метил-ДОФА 133  
 Метилксантины 319  
 $\alpha$ -Метил-п-тирозин 132, 133  
 Метилмедманн 181  
 Метилурацил 321  
 3-Метилхолантерн 76, 315  
 Метиниллизилбрадикинин 194  
 Метисергид 186  
 Метотрексат 322  
 Методы (ы)  
   — валентных связей 49 и сл.  
   — исследования рецепторов 104  
   — — радикалов 41  
   — — строения ДНК 287  
   — молекулярных орбиталей 49 и сл.  
   — Хюккеля 52  
 Мет-энкефалин 254  
 Миансерин 183  
 Миелоциты 319  
 Микросомы 13  
 Милеран 291  
 Миорелаксанты 121 и сл.  
 Мирацил А 219  
 Митомицин 292, 293  
 Митохондрии 12  
   — дыхательная цепь 63  
   — окислительное фосфорилирование 63  
 Митрамицин 293  
 Моноаминоксидаза 138  
 Морфин 72, 73, 186, 244 и сл.  
 Моноацетилпутресцин 280  
 Морфинорецепторы 247 и сл.  
   — взаимодействие с наркотическими  
   анальгетиками 246  
   — идентификация 247  
   — локализация 249  
 МСГ 229  
 Мускарин 114  
 Мусцимол 283  
 Мутации 289, 280  
 Мышьяк 103

#### НАДФН-цитохром-Р-450-редуктаза

67, 76, 139  
 Налоксон 245, 246  
 Налорфин 245, 246  
 Налтрексон 245  
 Натрий 252  
 Нейраминидаза 179  
 Нейролептики 261  
 Неокарционостатин 295  
 Неомицин 293  
 Ниаламид 134  
 Никотин 114  
 Никотинамиддинуклеотид 63  
 Новобиоцин 293  
 Норкодеин 73  
 Новокаин 186  
 Новокаиномид 189  
 Ногаламицин 300  
 Нозипан 261

Нордопан 321  
 Норадреналин 74, 124  
   — депонирование 134  
   — связь с рецептором 108  
   — высвобождение 139  
 5'-Нуклеотидаза 239 и сл.

#### Обратимость химическая 27

Оксалидин 261  
 Окисление 62  
   — липидов 43  
   — ксенобиотиков 69 и сл.  
   — природных субстратов 69  
 Оксифенилбутазон 85  
 Окситоцин 216, 233  
 5-Окситриптами 171  
 5-Окситриптофан 171  
 Октадин 139  
 Октопамин 132  
 Опия алкалоиды 246  
 Оразомукоид 81  
 Оубаин 135

#### Падутин 198

Папаверин 73, 319  
 Парацетамол 73  
 Пармидин 204  
 Пенициллин 106  
 Пентаметоний 123  
 Пептиды опионоподобные 254  
 Первитин 261  
 Пероксид водорода 41  
 Пертофан 73  
 Пизотифен 191  
 Пикртоксин 266  
 Пимозид 144, 145  
 Пиридиноккарбамат 148, 203  
 Пиридоксаль-5-фосфат 148  
 Пиридоксифен 144  
 Пирогаллол 140  
 Пирогенал 204  
 Плазмин 143  
 Плюрамицин А 295  
 Поливинилпирролидон 152  
 Полисахарид с противоопухолевой  
   активностью 319  
 Порядок связи 53  
 Потенциал  
   — химический 19  
   — электрохимический 62  
 Практолол 137  
 Преднизолон 202, 325  
 Прекалликреин 193  
 Препиламин 135  
 Прогестерон 44  
 Пропердин 308  
 Пролактин 163  
 Пролидаза 100  
 Пронеталол 144  
 Простагландины 139, 207 и сл.  
   — высвобождение 210



- структура 208
- механизм действия 217
- обмен 210
- физиологические эффекты 214
- Простановая кислота 208
- Протеаза 205
- Протеинкиназы 236
- Профлавин 293
- Процессы необратимые 21
- Психоаналептики 261
- Психозомиметики 262
- Психотоники 261
- Путресцин 280
- Пурамицин 293
  
- Равновесие Доннана 20 и 21 сл.
- Радикалы свободные 39 и сл.
  - получение 40
  - свойства 42
  - участие в цепных реакциях 39
- Радиомиметики 291
- Реакции (я)
  - аллергические 326
  - восстановления 69
  - конъюгаций 74
  - молекулярность 23
  - НАДН-зависимые 69
  - НАДФН-зависимые 69
  - направление 17
  - обратимые 27
  - окисления 67
  - окислительно-восстановительные 62
  - первичная фармакологическая 4
  - последовательные 25 и 26 сл.
  - превращения лекарственных веществ 76
  - скорость 22 и 23 сл.
  - сопряжение 31
  - цепные 41
- Резерпин 134, 135
- Рентгеноконтрастные вещества 66
- Репликация 293
- Ретикулоэндотелиальная система 309, 310
- Рецептор (ы)
  - адренергические 125 и сл.
  - белково-пептидных гормонов 229, 230
  - гистаминовые 157 и сл.
  - дофаминовые 128
  - интрацеллюлярные 96
  - кинетика комплексообразования с лекарствами 94 и сл.
  - конформация 110, 112
  - межмолекулярный 99
  - мономолекулярные 99
  - мускариновый 105
  - модуляция 109
  - наркотических анальгетиков 246
  - неспецифические 6

- специфические 6
- стероидных гормонов 222
- фармакологические 5
- цитоплазматические 227
- экстрацеллюлярные 96
- 1-го порядка 101
- 2-го порядка 101
- Рибоза 298
- Рибосома 286
- Рифампицин 301
- РНК 285, 298 и сл.
  - информационная 298
  - рибосомальная 298
  - транспортная 298
- РНК-полимераза 237
- Розеткообразование 319
- Ротенон 63
- Ртуть 103
  
- Салициловая кислота 71
- Сарколизин 291
- Саркомицин 296
- Сахароза 48
- Связь
  - водородная 79, 105
  - дисульфидная 102 и сл.
  - ковалентная 58
  - химическая 49
  - электростатическая 79
  - электровалентная 58
- Сегонтин 135
- Седуксен 261
- Секс-стероидсвязывающий глобулин 80
- Семикарбазид 148
- Серотонин 74, 81, 169 и сл.
  - агонисты Д-типа 180
  - — М-типа 186
  - — Т-типа 188
  - метаболизм 171 и 172 сл.
  - содержание в тромбоцитах 82, 171
  - фармакологические эффекты 173
  - химические свойства 170
- Серотонинреактивные структуры 178
- Сибиромидин 293
- Сиднокарб 261
- Сиднофен 261
- Силы
  - Ван-дер-Ваальса 56
  - дипольного взаимодействия 56
  - дисперсионные 57
  - индукционные 57
  - ориентационные 57
- Симпатолитики 139
- Симпатомиметики 138
- Синапсомы 136
- Система (ы)
  - аденилатциклазная 231
  - гетерогенные 32
  - калликреин-кининовая 192
  - макрофагально-лимфоцитарная 309

— индукция 15  
 — рецепторы 15  
 — ретикулоэндотелиальная система 309  
 — специфические 82  
 — неспецифические 82  
 Сокани 185  
 Сольваты 44  
 Спермин 293  
 Спирозовые метки 104  
 Спирооперидол 145  
 Соталол 144  
 Средства противоопухолевые  
 СТГ 229  
 Стероидные гормоны 218  
 — механизм действия 222  
 — физиологические эффекты  
 — химическая структура  
 Стероиды 90  
 Стрептоварицин 301  
 Стрептолигидин 301  
 Стрептонигрин 293  
 Сукцинатоксидаза 39  
 Сульфинпиразон 85  
 Сульфодиметоксин 75  
 Супрастин 166  
 Сурамин 84  
 Тавегил 166  
 Теория (и)  
 — абсолютных скоростей  
 — Михаэлиса 38  
 — мобильных рецепторов  
 — мутаций 289  
 — переходного состояния  
 — радикально-цепных  
 — синаптическая 6  
 — фармакологической  
 — — Кларка 110  
 — — Ариенса 110  
 Теофиллин 152, 319  
 Теренол 127  
 Терминация 299  
 Тестостерон 219  
 Тетрамизол 320  
 Тетрациклин 293  
 Тимин 59  
 Тиопентал-натрий 307  
 Типиндол 189  
 Тирозин 132  
 Тирозингидроксилаза 13  
 Тироксин 80  
 Токоферол 44  
 Толерантность 261  
 Трансфераза 311  
 Трансферин 81  
 Триоксазин 261  
 Трипафонид 292  
 Трилафен 200  
 Трипеленнамин 158



- микросомального гидроксилирования 67
- равновесные 15
- ретикулоэндотелиальные 309
- транспортные 78
- — специфические 80
- — неспецифические 82
- Совкаин 185
- Сольваты 44
- Спермин 293
- Спиновые метки 104
- Спироперидол 145
- Соталол 144
- Средства противоопухолевые 291
- СТГ 229
- Стероидные гормоны 218
  - механизм действия 222
  - физиологические эффекты 219
  - химическая структура 219
- Стеронды 90
- Стрептоварицин 301
- Стрептолигидин 301
- Стрептотригрин 293
- Сукцинатоксидаза 39
- Сульфинпиразон 85
- Сульфодиметоксин 75
- Супрастин 166
- Сурамин 84

Тавегил 166

Теория (и)

- абсолютных скоростей 34
- Михаэлиса 38
- мобильных рецепторов 318
- мутаций 289
- переходного состояния 34, 35
- радикально-цепных реакций 41
- синаптическая 6
- фармакологической рецепции 110
- — — Кларка 110
- — — Ариенса 110

Теофилин 152, 319

Теренол 127

Терминация 299

Тестостерон 219

Тетрамизол 320

Тетрациклин 293

Тимин 59

Тиопентал-натрий 307

Типиндол 189

Тирозин 132

Тирозингидроксилаза 132

Тироксин 80

Токоферол 44

Толерантность 261

Трансфераза 311

Трансферин 81

Триоксазин 261

Трипановид 292

Тропафен 200

Трипеленнамин 158

Трипсин 193

Триптамин 182

- производные 185

Триптофан 86

Триптофангидроксилаза 171

Трифтазин 261

Трихлоруксусная кислота 91

Тромбоциты 81

Тубозид 187

*d*-Тубокурарин 153

Тропафен 144

Тропалоны 140

ТТГ 229

Убихинон 44

Углеводы 62

УДД-галактозо-4-эпимераза 238

Уравнение

- Аррениуса 30
- Больцмана 111
- Ленгмюра 33

Уридин-5-дифосфо-D-глурононовая кислота 75

Уроканиновая кислота 147

Урокиназа 147

УТ-фаза 112

Фагоцитоз 6

Фактор Хагемана 193

Фармакология

- биохимическая 4
- квантовая 9
- клиническая 4
- молекулярная 9
- радиационная 4
- теоретическая 4
- физиологическая 4
- экспериментальная 4

Фармакогенетика 11

Флавопротенд 67

Фенадон 274

Феназепам 282

Фенамин 136

Фенацетин 73

Фенилаланин 132

Фенилбигуанид 187

Фенилбутазон 85, 202

Фенилэтанолламин-N-метилтрансфераза 134

Фенобарбитал 68, 70, 76, 307

Феноксibenзамид 159

Фенотиазины 261

Фенпрокумон 85

Фентанил 274

Фентоламин 142

Ферменты

- митохондриальные 61
- нуклеоплазматические 299
- протеолитические 152
- регуляция активности 39



— эндоплазматического ретикулума 311

Фибрин 205  
Фибриноген 205  
Фибринопептиды 205  
Физолемин 195  
Фитогемаглютинин 318  
Флеомицин 295, 299  
Флупентиксол 145  
Флуфеноменовая кислота 85, 203  
Фосфатидилинозитол 129  
Фосфодиэстераза 235, 241, 319  
Фосфолипаза А 211, 237  
Фосфолипиды 211  
Фосфорилирование белков 236  
Френолон 261  
ФСГ 229  
Фторацизин 262  
5-фтордезоксисуридин 321  
5-фторурацил 321  
Фторфеназа 145  
Фумараза 100  
Функция состояния 22

Химотрипсин 149  
Хлорамфеникол 293  
Хлорводород 57  
Хлордiazепоксид 261  
Хлорхинон 293  
Хлорпирамин 203  
Хлорпромазин (см. Аминазин)  
Хлорфенирамин 158  
Холин 263  
Холинацетилтрансфераза 263  
Холинолитики 264  
Холинорецепторы 112  
Холинэстераза 114  
Хроматин 225  
Хромогликат динатрия 326  
Хромогранин 138  
Хромомицин 293

Цепь переноса электронов  
— в митохондриях 63  
— — регуляция лекарствами 63  
— в эндоплазматическом ретикулуме 67

Цирулоплазмин 81  
Цианиды 63  
Циклогексимид 296  
Циклосерин 101  
Циклофосфамид 323  
Циклофосфатид 291  
Циметидин 163  
Цинансерин 191  
Ципрогептадин 184

Цистеин 39  
Цитохром  $b_5$  76  
Цитохром  $c$  100  
Цитохром- $c$ -редуктаза 100  
Цитохром Р-450 67 и сл.  
Цитохром Р-448 71

Эдеин 295  
ЭДТА 44  
Эзерин 204  
Экзоцитоз 139  
Эледоизин 195  
Элениум (см. Хлордiazепоксид)  
Элонгация 299  
Эндорфин 254  
Эндоплазматический ретикулум 66  
и сл.

Эндоцитоз 309  
Энергия  
— активации 29  
— — радикальных реакций 40  
— Гиббса 18  
— дипольного взаимодействия 56  
— дисперсионного взаимодействия 56  
— отталкивания 55  
— потенциальная 55  
— притяжения 55

Энкефалины 254 и сл.  
Энтальпия 80  
Энтропия 16, 17, 80  
Эпинин 141, 145  
Эргозин 181  
Эргокорнин 145, 181  
Эргокристин 181  
Эргоновин 181  
Эрготамин 181  
Эритромицин 293  
Эритроциты 92  
Эробазин 181  
Эстеразы 149  
Эстрадиол 219  
Эстрогены 223  
Эстрон 219  
Эстриол 219  
Этакриновая кислота 85  
Этаминал 69  
Этаперазин 261  
Этидий бромистый 295  
Эторфин 245  
Эфедрин 74  
Эффект  
— индуктивный 51  
— мезомерный 54  
— тепловой 17  
— туннельный 60

Яды каталитические 39

Предисловие . . . . .  
Введение . . . . .  
§ 1. Биохимическая ф . . . . .  
§ 2. Методологические . . . . .

## ФИЗИКО-ХИМ

### Глава 1. Общие тер стемы . . . . .

§ 1. Равновесие . . . . .  
§ 2. Законы термодин . . . . .  
§ 3. Термодинамическ . . . . .  
акции . . . . .  
§ 4. Равновесие Дон . . . . .  
§ 5. Термодинамика . . . . .

### Глава 2. Химическая

§ 1. Скорость реакции . . . . .  
§ 2. Закон действия . . . . .  
§ 3. Последовательность . . . . .  
§ 4. Диффузия . . . . .  
§ 5. Химическая обра . . . . .  
§ 6. Энергия активаци . . . . .  
§ 7. Сопряженные ре . . . . .  
§ 8. Особенности кин . . . . .  
§ 9. Теория переходн . . . . .  
§ 10. Катализ . . . . .

### Глава 3. Свободнора

§ 1. Свободные ради . . . . .  
§ 2. Свойства свобод . . . . .

### Глава 4. Состояние

§ 1. Буферные систем . . . . .  
§ 2. Структура воды . . . . .  
§ 3. Изменение струк . . . . .

### Глава 5. Строение и

§ 1. Химическая связь . . . . .  
§ 2. Основы методов . . . . .  
(МО)  
§ 3. Гибридизация . . . . .  
§ 4. Особенности моле . . . . .  
§ 5. Сопряженные поле . . . . .  
§ 6. Структурные инде . . . . .  
§ 7. Порядок связи . . . . .  
§ 8. Индекс свободной . . . . .



## ОГЛАВЛЕНИЕ

|  |   |
|--|---|
| Предисловие . . . . .  | 3 |
| Введение . . . . .   | 4 |
| § 1. Биохимическая фармакология: итоги и перспективы . . . . .     | 4 |
| § 2. Методологические вопросы биохимической фармакологии . . . . . | 8 |

### ЧАСТЬ I

#### ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФАРМАКОЛОГИИ

|   |     |
|---|-----|
| Глава 1. Общие термодинамические закономерности. Равновесные системы . . . . .    | 15  |
| § 1. Равновесие . . . . .   | 15  |
| § 2. Законы термодинамики . . . . .   | 16  |
| § 3. Термодинамические критерии выбора возможного направления реакции . . . . .   | 17  |
| § 4. Равновесие Доннана . . . . .   | 20  |
| § 5. Термодинамика необратимых процессов . . . . .                                | 21  |
| Глава 2. Химическая кинетика . . . . .  | 22  |
| § 1. Скорость реакции . . . . .   | 22  |
| § 2. Закон действия масс. Молекулярность реакции . . . . .                        | 23  |
| § 3. Последовательные реакции . . . . .   | 25  |
| § 4. Диффузия . . . . .   | 26  |
| § 5. Химическая обратимость . . . . .   | 27  |
| § 6. Энергия активации . . . . .  | 29  |
| § 7. Сопряженные реакции . . . . .  | 31  |
| § 8. Особенности кинетики реакций в гетерогенных системах . . . . .               | 32  |
| § 9. Теория переходного состояния . . . . .                                       | 34  |
| § 10. Катализ . . . . .   | 35  |
| Глава 3. Свободнорадикальные процессы . . . . .                                   | 39  |
| § 1. Свободные радикалы и цепные реакции . . . . .                                | 39  |
| § 2. Свойства свободных радикалов . . . . .                                       | 42  |
| Глава 4. Состояние вещества в растворе . . . . .                                  | 44  |
| § 1. Буферные системы . . . . .   | 46  |
| § 2. Структура воды . . . . .   | 47  |
| § 3. Изменение структуры воды под влиянием ионов . . . . .                        | 49  |
| Глава 5. Строение и свойства молекул . . . . .                                    | 49  |
| § 1. Химическая связь . . . . .   | 49  |
| § 2. Основы методов валентных связей (ВС) и молекулярных орбиталей (МО) . . . . . | 50  |
| § 3. Гибридизация . . . . .   | 51  |
| § 4. Особенности молекул, содержащих $\sigma$ -связи . . . . .                    | 51  |
| § 5. Сопряженные $\pi$ -электронные системы . . . . .                             | 52  |
| § 6. Структурные индексы . . . . .  | 53  |
| § 7. Порядок связи . . . . .  | 53  |
| § 8. Индекс свободной валентности . . . . .                                       | 339 |



## Глава 6. Слабые силы химической связи. Межмолекулярные взаимодействия . . . . .

|   |    |
|---|----|
| § 1. Потенциальная энергия взаимодействия молекул . . . . .                       | 55 |
| § 2. Силы Ван-дер-Ваальса . . . . .   | 56 |
| § 3. Комплексы с переносом заряда. Донорно-акцепторные свойства молекул . . . . . | 58 |
| § 4. Водородная связь . . . . .   | 59 |
| Глава 7. Окислительно-восстановительные реакции . . . . .                         | 62 |
| § 1. Электрохимический потенциал . . . . .  | 62 |
| § 2. Цепи переноса электронов в биологических системах . . . . .                  | 63 |
| Литература . . . . .  | 64 |

## ЧАСТЬ II

### МЕТАБОЛИЗМ И БИОТРАНСПОРТ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

|  |    |
|--|----|
| Глава 1. Биохимическая трансформация лекарственных веществ ■ организме . . . . .   | 65 |
| § 1. Роль эндоплазматического ретикулума печени ■ биотрансформации лекарственных веществ . . . . .   | 66 |
| § 2. Основные типы реакций превращения лекарственных веществ в эндоплазматическом ретикулуме печени . . . . .                                  | 69 |
| § 3. Роль лекарственных веществ в изменении ферментативной активности метаболизирующей системы эндоплазматического ретикулума печени . . . . . | 76 |
| Глава 2. Транспортные системы лекарственных веществ и химические принципы их функционирования . . . . .  | 78 |
| § 1. Физико-химические аспекты комплексообразования низкомолекулярных веществ с биомакромолекулами . . . . .                                   | 79 |
| § 2. Специфические транспортные системы крови . . . . .  | 80 |
| § 3. Сывороточный альбумин — основной представитель неспецифических транспортных систем крови . . . . .  | 82 |
| § 4. Физиологическое значение связывания низкомолекулярных веществ с транспортными белками . . . . .   | 87 |
| Литература . . . . .   | 92 |

## ЧАСТЬ III

### БИОХИМИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ С РЕЦЕПТОРАМИ

|  |     |
|--|-----|
| Глава 1. Фармакологическая рецепция как теоретическая основа конструирования новых лекарственных средств . . . . . | 94  |
| § 1. Кинетика комплексообразования фармакологического препарата с рецептором . . . . .                             | 94  |
| § 2. Принципы внутриклеточной компартментализации и рецепция . . . . .   | 96  |
| § 3. Понятие о структурной комплементарности лекарственного вещества и рецептора . . . . .                         | 98  |
| § 4. Роль дисульфидной связи во взаимодействии лекарственного вещества с рецептором . . . . .                      | 102 |
| § 5. Некоторые методические подходы к исследованию рецепторов . . . . .  | 104 |
| § 6. Структура воды и рецепция фармакологических препаратов . . . . .  | 105 |
| § 7. Физико-химические аспекты лекарственной рецепции . . . . .  | 108 |
| § 8. Теория фармакологической рецепции . . . . .   | 110 |
| § 9. Гипотеза о роли рецепторов в передаче информации в клетку . . . . .   | 112 |
| § 10. Проблемы фармакологической инженерии . . . . .   | 112 |
| Глава 2. Ацетилхолин. Холинорецепторы. Холинергические вещества . . . . .  | 112 |
| § 1. Выделение холинорецептора, состав и размеры молекулы . . . . .  | 115 |

|   |  |
|---|--|
| Глава 3. Катехоламины . . . . .   |  |
| § 1. Адренергические рецепторы . . . . .  |  |
| § 2. Фармакология адренергических препаратов . . . . .                          |  |
| Глава 4. Гистамин и адренергические рецепторы . . . . .                         |  |
| § 1. Физико-химические аспекты взаимодействия гистамина с рецепторами . . . . . |  |
| § 2. Биосинтез гистамина . . . . .  |  |
| § 3. Депонирование и высвобождение гистамина . . . . .                          |  |
| § 4. Пути инактивации гистамина . . . . .                                       |  |
| § 5. Гистаминовые рецепторы . . . . .   |  |
| § 6. Основные аспекты фармакологии гистаминовых рецепторов . . . . .            |  |
| § 7. Антигистаминные препараты . . . . .  |  |

|  |  |
|--|--|
| Глава 5. Серотонин. Серотониновые рецепторы . . . . .  |  |
| § 1. Некоторые химические свойства серотонина . . . . .  |  |
| § 2. Содержание и обмен серотонина . . . . .   |  |
| § 3. Влияние серотонина на различные органы и ткани . . . . .  |  |
| § 4. Значение серотонина в регуляции различных функций . . . . .   |  |
| § 5. Общее понятие о серотониновых рецепторах и методах их исследования . . . . .                        |  |
| § 6. Фармакологическое значение серотониновых рецепторов . . . . .                                       |  |
| § 7. Фармакологическое значение серотониновых рецепторов в регуляции гладких мышц . . . . .              |  |
| § 8. Фармакологическое значение серотониновых рецепторов в регуляции вегетативных ганглиев . . . . .     |  |
| § 9. Фармакологическое значение серотониновых рецепторов в регуляции сердечно-легочной системы . . . . . |  |
| § 10. Влияние антагонистов серотонина . . . . .  |  |
| § 11. Применение антагонистов серотонина . . . . .   |  |

|  |  |
|--|--|
| Глава 6. Кинины . . . . .                              |  |
| § 1. Биохимия калликреина . . . . .                    |  |
| § 2. Физиологическая роль кининов . . . . .            |  |
| § 3. Кинины и патологические процессы . . . . .        |  |
| § 4. Молекулярные аспекты действия кининов . . . . .   |  |
| § 5. Вещества, регулирующие действие кининов . . . . . |  |

|  |  |
|--|--|
| Глава 7. Простагландины . . . . .                    |  |
| § 1. Структура и классификация . . . . .             |  |
| § 2. Распределение, биосинтез и метаболизм . . . . . |  |
| § 3. Физиологические функции . . . . .               |  |
| § 4. Молекулярные аспекты действия . . . . .         |  |

|  |  |
|--|--|
| Глава 8. Стероидные гормоны . . . . .  |  |
| § 1. Классификация . . . . .           |  |
| § 2. Физиологические функции . . . . . |  |
| § 3. Механизмы действия . . . . .      |  |

|   |  |
|---|--|
| Глава 9. Белково-пептидные гормоны . . . . .              |  |
| § 1. Классификация . . . . .                              |  |
| § 2. Рецепторы белково-пептидных гормонов . . . . .       |  |
| § 3. Роль аденилатциклазы в передаче информации . . . . . |  |



|   |     |
|---|-----|
| § 2. Конформации холинорецепторов и медиаторных молекул . . . . .   | 118 |
| § 3. Взаимодействие дикатионов с холинорецепторами скелетных мышц . . . . .   | 120 |
| § 4. Зависимость типа действия дикатионов от их гибкости . . . . .  | 122 |
| Глава 3. Катехоламины. Адренорецепторы. Адренергические вещества . . . . .  | 123 |
| § 1. Адренергические рецепторы ■ адренорецепция . . . . .   | 125 |
| § 2. Фармакология адренергических синапсов . . . . .  | 131 |
| Глава 4. Гистамин и антигистаминные средства . . . . .  | 146 |
| § 1. Физико-химические свойства гистамина . . . . .   | 146 |
| § 2. Биосинтез гистамина . . . . .  | 147 |
| § 3. Депонирование и высвобождение гистамина . . . . .  | 148 |
| § 4. Пути инактивации гистамина в организме . . . . .   | 153 |
| § 5. Гистаминовые рецепторы . . . . .   | 157 |
| § 6. Основные аспекты фармакологического действия гистамина . . . . .   | 160 |
| § 7. Антигистаминные средства . . . . .   | 165 |
| Глава 5. Серотонин. Серотонинореактивные структуры. Агонисты и антагонисты серотонина . . . . .   | 169 |
| § 1. Некоторые химические свойства серотонина . . . . .   | 170 |
| § 2. Содержание ■ обмен серотонина у млекопитающих . . . . .  | 171 |
| § 3. Влияние серотонина на организм млекопитающих . . . . .   | 173 |
| § 4. Значение серотонина ■ физиологических и патологических реакциях . . . . .  | 176 |
| § 5. Общее понятие о серотонинореактивных структурах, их возможном строении и методе фармакологической характеристики . . . . .                               | 178 |
| § 6. Фармакологическая характеристика серотонинореактивных структур гладких мышц. Агонисты и антагонисты серотонина Д-типа . . . . .                          | 180 |
| § 7. Фармакологическая характеристика серотонинореактивных структур вегетативных ганглиев. Агонисты и антагонисты серотонина М-типа . . . . .                 | 186 |
| § 8. Фармакологическая характеристика серотонинореактивных структур сердечно-легочной рефлексогенной зоны. Агонисты ■ антагонисты серотонина Т-типа . . . . . | 188 |
| § 9. Влияние антагонистов Д-, М- и Т-типа на центральные эффекты серотонина . . . . .   | 190 |
| § 10. Применение антагонистов серотонина с терапевтической целью . . . . .  | 191 |
| Глава 6. Кинины . . . . .   | 192 |
| § 1. Биохимия калликреин-кининовой системы . . . . .  | 192 |
| § 2. Физиологическая роль калликреин-кининовой системы . . . . .  | 195 |
| § 3. Кинины и патофизиологические реакции организма . . . . .   | 198 |
| § 4. Молекулярные механизмы действия кининов . . . . .  | 199 |
| § 5. Вещества, регулирующие фармакологическую активность брадикинина . . . . .  | 201 |
| Глава 7. Простагландины . . . . .   | 207 |
| § 1. Структура и классификация . . . . .  | 208 |
| § 2. Распределение, биосинтез и метаболизм . . . . .  | 210 |
| § 3. Физиологические эффекты . . . . .  | 214 |
| § 4. Молекулярные механизмы действия . . . . .  | 217 |
| Глава 8. Стероидные гормоны . . . . .   | 218 |
| § 1. Классификация и химическая структура . . . . .   | 219 |
| § 2. Физиологические эффекты . . . . .  | 219 |
| § 3. Механизмы действия стероидов на клеточном уровне . . . . .   | 222 |
| Глава 9. Белково-пептидные гормоны . . . . .  | 228 |
| § 1. Классификация ■ химическая структура . . . . .   | 229 |
| § 2. Рецепторы белково-пептидных гормонов . . . . .   | 229 |
| § 3. Роль аденилатциклазной системы ■ реализации биологической активности белково-пептидных гормонов . . . . .  | 231 |
|   | 341 |



|   |            |
|---|------------|
| § 4. Влияние белково-пептидных гормонов на активность АТФ-аз и 5'-нуклеотидазы плазматических мембран . . . . . | 239        |
| § 5. Связь химической структуры белково-пептидных гормонов с их биологическим действием . . . . .               | 242        |
| <b>Глава 10. Наркотические анальгетики . . . . .</b>  | <b>244</b> |
| § 1. Химическая структура . . . . .   | 244        |
| § 2. Механизм действия . . . . .  | 245        |
| § 3. Идентификация морфинорецепторов . . . . .  | 247        |
| § 4. Локализация морфинорецепторов . . . . .  | 249        |
| § 5. Взаимодействие наркотических анальгетиков с морфинорецепторами . . . . .                                   | 251        |
| § 6. Эндогенные опиатоподобные пептиды . . . . .  | 254        |
| Литература . . . . .  | 256        |

## ЧАСТЬ IV

### НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ

|   |            |
|---|------------|
| <b>Глава 1. Холинергические механизмы действия психотропных веществ . . . . .</b>     | <b>263</b> |
| § 1. Биохимия холинергической системы ЦНС . . . . .                                   | 263        |
| § 2. Влияние психотропных средств на холинергические механизмы ЦНС . . . . .          | 264        |
| <b>Глава 2. Адренергические механизмы действия психотропных веществ . . . . .</b>     | <b>266</b> |
| § 1. Дофаминергическая гипотеза механизма действия нейрорептиков . . . . .            | 266        |
| § 2. Влияние психотропных средств на тирозингидроксилазу мозга . . . . .              | 270        |
| § 3. Влияние психотропных веществ на резервирование катехоламинов (КА) . . . . .      | 272        |
| § 4. Захват моноаминов как возможная точка приложения психотропных веществ . . . . .  | 274        |
| <b>Глава 3. Серотонинергические механизмы действия психотропных веществ . . . . .</b> | <b>276</b> |
| § 1. Биохимия серотонинергической системы ЦНС . . . . .                               | 276        |
| § 2. Влияние психотропных веществ на серотонинергическую систему . . . . .            | 277        |
| <b>Глава 4. Гамкергические механизмы действия психотропных средств . . . . .</b>      | <b>279</b> |
| § 1. Биохимия гамкергической системы ЦНС . . . . .                                    | 279        |
| § 2. Аналоги и производные ГАМК как потенциальные нейротропные средства . . . . .     | 281        |
| Литература . . . . .  | 284        |

## ЧАСТЬ V

### НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ВЕЩЕСТВА

|   |            |
|---|------------|
| <b>Глава 1. Дезоксирибонуклеиновая кислота ■ лекарственные вещества . . . . .</b>   | <b>287</b> |
| § 1. Строение ДНК и методы ее исследования . . . . .                                | 287        |
| § 2. Механизм действия некоторых генотропных веществ . . . . .                      | 290        |
| § 3. Процесс репликации ■ клетке и ферменты, участвующие в его реализации . . . . . | 293        |
| § 4. Лекарственные вещества, влияющие на процесс репликации в клетке . . . . .      | 295        |
| <b>Глава 2. Рибонуклеиновые кислоты и лекарственные вещества . . . . .</b>          | <b>298</b> |
| § 1. Строение РНК. Процесс транскрипции в клетке . . . . .                          | 298        |
| § 2. Лекарственные вещества, влияющие на процесс транскрипции в клетке . . . . .    | 299        |
| Литература . . . . .  | 302        |



## ЧАСТЬ VI

### РОЛЬ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ЭФФЕКТАХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

|   |     |
|---|-----|
| Глава 1. Иммуитет как функция системы, инактивирующей чужеродные химические соединения (ксенобиотики). Сравнительные аспекты некоторых детоксицирующих систем организма . . . . . | 305 |
| § 1. Иммунологическая защита организма от чужеродных веществ . . . . .  | 305 |
| § 2. Связь системы иммунитета с другими детоксицирующими системами организма . . . . .  | 309 |
| § 3. Генетический контроль защитных реакций организма . . . . .   | 315 |
| Глава 2. Иммунные реакции и действие на них фармакологических веществ . . . . .   | 316 |
| § 1. Клеточные и молекулярные механизмы иммунных ответов . . . . .  | 316 |
| § 2. Влияние фармакологических веществ на систему иммунитета . . . . .  | 319 |
| § 3. Некоторые представления о механизме действия противоаллергических средств . . . . .  | 325 |
| § 4. Антитела ■ биологически активным молекулам и их использование в фармакологии . . . . .   | 327 |
| Литература . . . . .  | 329 |



Павел Васильевич Сергеев, Лев Александрович Николаев,  
Элвис Мустафович Халилов, Николай Львович Шимановский,  
Рошен Джафарович Сейфулла, Николай Васильевич Хромов-Борисов,  
Игорь Васильевич Комиссаров, Инга Николаевна Пидевич,  
Олег Александрович Гомазков, Сергей Николаевич Португалов,  
Владимир Валентинович Лакин, Владимир Зиновьевич Горкин,  
Кирилл Сергеевич Раевский, Александр Иванович Матюшин,  
Виктор Семенович Осняч, Игорь Ефимович Ковалев

### БИОХИМИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Зав. редакцией С. Ф. Кондрашкова  
Редактор М. М. Поплавская  
Младшие редакторы С. М. Ерохина и Т. С. Костян  
Технический редактор З. В. Нуждина  
Художественный редактор Т. М. Скворцова  
Художник Ф. Н. Буданов  
Корректор В. А. Орлова

ИБ № 3374

Изд. № Хим — 637. Сдано в набор 14.07.82. Подп. в печать 12.10.82. Формат 60×90<sup>1/16</sup>.  
Бум. тип. № 2. Гарнитура литературная. Печать высокая. Объем 21,5 усл. печ. л.  
Усл. кр.-отт. 21,5. Уч.-изд. л. 26,43. Тираж 15 000 экз. Зак. № 540. Цена 1 р. 20 к.

Издательство «Высшая школа», Москва, К-51, Неглинная ул., д. 29/14

Московская типография № 8 Союзполиграфпрома  
при Государственном комитете СССР  
по делам издательств, полиграфии и книжной торговли,  
Хохловский пер., 7.



Александрович Николаев,  
Львович Шимановский,  
Васильевич Хромов-Борисов,  
Николаевна Пидевич,  
Николаевич Португалов,  
Иванович Горкин,  
Иванович Матюшин,  
Ефимович Ковалев

## МАКОЛОГИЯ

Израшкова  
Лавская  
ина и Т. С. Костин  
В. Нуждина  
Т. М. Скворцова  
данов  
лова

п. в печать 12.10.82. Формат 84/108  
ть высок. № 540. Объем 21,5 лс. 2  
000 экз. Зак. № 540. Цена 1 р. 30 к.  
К-51, Неглиная ул., д. 29/4  
издательство СССР  
и книжной торговли



THE  
BIBLE

BOOK of Library N 75



1000135862





БНКОХХМНХСРФПМКОИОНН